

UNIVERSITÉ DE NANCY -- FACULTÉ DE PHARMACIE
1935-1936

N°

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DU phénomène glycolytique

Influence des anticoagulants sur la glycolyse « in vitro »

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement le 20 Mai 1936, à 17 heures 30

POUR OBTENIR LE GRADE DE

Docteur en Pharmacie

PAR

M. DE CONINCK Jacques

né à S'-Étienne-au-Mont, le 11 Août 1911

EXAMINATEURS
DE LA THÈSE :

{ MM. DOURIS, Professeur, *Président.*
MEUNIER, chargé de cours magistral, *Juge.*
CORDEBARD, chargé de cours, *Juge.*

Le Candidat répondra aux questions qui lui seront posées
sur les diverses parties de l'enseignement

LILLE

Société Anonyme d'Imprimerie
et d'Édition du Nord

1936

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE
DU
phénomène glycolytique

Influence des anticoagulants sur la glycolyse « in vitro »

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement le 20 Mai 1936, à 17 heures 30

POUR OBTENIR LE GRADE DE

Docteur en Pharmacie

PAR

M. DE CONINCK Jacques

né à St-Étienne-au-Mont, le 11 Août 1911

EXAMINATEURS
DE LA THÈSE :

{ MM. DOURIS, Professeur, *Président.*
MEUNIER, chargé de cours magistral, *Juge.*
CORDEBARD, chargé de cours, *Juge.*

Le Candidat répondra aux questions qui lui seront posées
sur les diverses parties de l'enseignement

LILLE
Société Anonyme d'Imprimerie
et d'Édition du Nord

1936

UNIVERSITÉ DE NANCY — FACULTÉ DE PHARMACIE

PERSONNEL ENSEIGNANT

Doyen :

M. PASTUREAU, O *, I ☙, ✕.

Assesseur :

M. LASSEUR, *, I ☙, ●.

MM.

Professeurs :

DOURIS, I ☙, ●, ✕.....	Toxicologie.
PASTUREAU, O *, I ☙, ✕.....	Pharmacie chimique.
SEYOT, *, ☼, I ☙, ●, ✕.....	Histoire naturelle.
LASSEUR, *, I ☙, ●.....	Microbiologie.
N.....	Matière médicale.
N.....	Chimie organique.
N.....	Pharmacie galénique.

Agrégré libre :

M. GIRARDET, *, I ☙..... Chimie et Toxicologie.

Chargés de cours magistral :

M. MEUNIER..... Pharmacie galénique.
M^{lle} M.-T. FRANÇOIS..... Matière médicale.

MM.

Chargés de cours :

VERNIER, I ☙.....	Zoologie.
CORDEBARD, ☼, I ☙.....	Analyse chimique.
DONZELOT	Physique.
MARCHAL	Hydrologie.

MM.

Chefs de travaux :

VERNIER, I ☙.....	Microbiologie et Parasitologie.
CORDEBARD, ☼, I ☙.....	Chimie et Analyse chimique.
STEIMETZ, ☙.....	Micrographie.
DONZELOT (chargé de travaux).....	Physique.
RICHARD (chargé de travaux).....	Pharmacie.
PY (chargé de travaux).....	Chimie biologique et Toxicologie.

Secrétariat :

M. E. TRIBOLET, I ☙..... Secrétaire.

Doyen honoraire :

M. BRUNTZ, O *, ☼, I ☙, O ●, ✕, ✕, Recteur de l'Université de Nancy.

Professeurs honoraires :

MM. GRÉLOT, *, I ☙, ●.

BRUNTZ, O *, ☼, I ☙, O ●, ✕, ✕.

La Faculté a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend ni les approuver ni les imputer.



A MA GRAND'MÈRE

A MES PARENTS

*Faible preuve de mon vif
amour filial et de ma reconnais-
sance.*

A MON ONCLE

M. EDMOND HAVET,
Pharmacien

A MES SŒURS

A TOUTE MA FAMILLE

A MES AMIS

A MONSIEUR LE PROFESSEUR PAGET

*Il a bien voulu nous inspirer
le sujet de notre thèse et nous
éclairer de ses conseils.*

*Qu'il trouve ici l'expression de
notre gratitude.*

A MONSIEUR LE PROFESSEUR DOURIS

Membre correspondant de l'Académie de Médecine

*Nous le remercions de l'hon-
neur qu'il nous fait en acceptant
de présider notre jury de thèse.*

A MESSIEURS LES MEMBRES DU JURY

INTRODUCTION

Une observation banale faite dans le laboratoire de chimie biologique de notre maître le Professeur Paget est à l'origine de ce travail.

Deux échantillons d'un même sang, l'un fluoré, l'autre oxalaté, ayant par hasard été examinés plusieurs heures après leur prélèvement au point de vue de la teneur en glucose, nous fûmes assez surpris de trouver dans l'un et l'autre la même concentration glucidique. Le problème du pouvoir antiglycolytique de l'oxalate était ainsi posé. C'est alors que M. le Professeur Paget nous invita à étudier l'action des divers anticoagulants sur la glycolyse « in vitro ». Cette étude à laquelle nous nous sommes attachés pendant une année fait précisément l'objet de notre thèse.

Nous l'avons divisée en quatre chapitres.

Le premier d'entre eux est réservé à l'exposé des techniques analytiques que nous avons suivies au cours de nos essais.

Le deuxième chapitre envisage l'influence des anticoagulants sur la vitesse de la glycolyse in vitro.

Le troisième s'attache à l'étude du rapport $\frac{\text{glucides globules}}{\text{glucides plasma}}$ et de ses variations selon l'anticoagulant employé.

Le quatrième et dernier chapitre suit l'évolution comparée de la glycémie, de la lactacidémie et de la phosphatémie au cours de la glycolyse « in vitro ».

Des conclusions condensent enfin les principaux résultats obtenus.

Avant d'aborder l'exposé de notre travail, nous sommes heureux de pouvoir remercier vivement M. le Professeur Paget qui nous inspira le sujet de notre thèse et qui a dirigé et contrôlé toutes nos expériences.

Nous exprimons aussi toute notre reconnaissance à M. le Professeur Douris qui a bien voulu examiner notre travail et présider notre jury de thèse.

CHAPITRE PREMIER

MÉTHODES DE DOSAGE

Nous exposerons dans ce chapitre les méthodes suivies pour le dosage de la glycémie, de la lactacidémie de la phosphatémie et de la phosphorémie totale.

I° Détermination de la glycémie.

Technique de M. Paget et Y. Dupont. — Cette technique dérive de celle de Baudoin-Lewin. Aussi précise que cette dernière, elle a l'avantage d'être d'exécution plus simple.

Elle comprend trois parties : la désalbumination, la réduction de la solution iodo-mercurielle, et le dosage proprement dit.

a) *Désalbumination*. — Celle-ci est réalisée par le procédé M. Paget et Y. Dupont.

1. — *Cas du sang total*. — Diluer 1 cm³ de sang total dans 15 à 20 cm³ d'eau distillée. Ajouter successivement 0 cc³ 5 de solution de ferrocyanure de potassium et 1 cm³ de solution d'acétate de zinc. Agiter après chaque addition. Compléter à 30 cm³ avec de l'eau. Agiter et filtrer sur filtre en cellulose pure ⁽¹⁾.

(1) Voici le titre des solutions :

Sol. A	{ Ferrocyanure de K anhydre : 150 grammes
	{ Eau distillée neutre q. s. p. : 1000 cm ³
Sol. B	{ Acétate de zinc anhydre : 112 grammes
	{ Eau distillée neutre q. s. p. : 1000 cm ³

2. — *Cas du plasma et du sérum.* — Opérer de la même façon que ci-dessus, mais employer des doses moindres de déféquant, c'est-à-dire 0 cc. 25 de la solution ferrocyanure de potassium et 0 cc. 50 de la solution d'acétate de zinc.

b) *Réduction de la solution iodo-mercurielle.* — Prélever 15 cc. du filtrat préalablement bien agité et les verser dans un tube à verre pyrex. (Dans le cas d'hyperglycémies, faire des dilutions suffisantes pour ne doser que des quantités de mercure de 1/2 à 1 milligramme).

Les additionner de 1 cm³ de solution iodo-mercurique et 1 cm³ de soude normale (il ne faut pas tenir compte du précipité blanc d'hydrate de zinc qui se forme en présence de la soude et qui disparaîtra dans la suite, lors de l'addition d'acide sulfurique. Cet hydrate facilite la dispersion du mercure réduit et évite l'emploi ultérieur du sulfate de baryum préconisé par Fleury.)

Plonger le tube, bouché au coton, dans un bain-marie bouillant à gros bouillons (vase de Bohême de 300 cm³). L'y laisser 3 à 6 minutes. Le retirer et le refroidir rapidement en le plongeant dans l'eau froide.

c) *Dosage du mercure.* — Ce dosage, ainsi que le calcul final s'effectuent comme dans la méthode Baudoin. Prendre soin cependant d'ajouter 3 cc. de solution I N/100 au lieu de 2 cc., car il importe de toujours verser au moins 1 cc. de solution d'hyposulfite de soude N/100.

2° Dosage de la lactacidémie.

Boas le premier, puis Furth, Jérusalem, et enfin Mondschein préconisèrent des méthodes de dosage de l'acide lactique dans le sang ; ces méthodes avec quelques variantes consistaient à transformer par oxydation l'acide lactique en acétaldéhyde, qu'on dose après distillation.

Ces techniques ayant le défaut de vouloir doser un corps très instable et donnant souvent des chiffres contradictoires, nous avons personnellement suivi la méthode indiquée par Klaus Hansen et Jervell, basée sur la transformation de l'acide lactique en acide acétique, stade que ne peut dépasser l'oxydation par le mélange bichromate de potasse-acide sulfurique, employé à des températures et à des concentrations déterminées.

Désalbumination. — La désalbumination du sang se fait généralement à l'acide tungstique, obtenu par action de $\text{So}^4 \text{H}^2 \text{N}$ sur le tungstate de soude à 10 %. Nous avons préféré appliquer ici la méthode au ferrocyanure de potassium, acétate de zinc, que nous avons déjà utilisée pour la glycémie.

Nous avons justifié cette substitution par une étude comparative dont voici les résultats :

Ferrocyanure K — Acétate Zn	Tungstate Na
0,33	0,31
0,28	0,26
0,30	0,30
0,22	0,20
0,25	0,23

Technique.

Désalbumination. — Diluer 5 cc. de sang défibriné dans 20 à 25 cm^3 d'eau, ajouter 2 cc. 5 de solution de ferrocyanure de potassium et 5 cc. de solution d'acétate de zinc. Agiter après chaque addition et compléter à 50 cc. Agiter de nouveau et filtrer sur cellulose pure.

Séparation du glucose. — Prendre 20 cm^3 du filtrat, ajouter 1 cm^3 de $\text{So}^4 \text{Cu}$ à 10 % et 2 cm^3 de suspension de chaux à 10 % pour séparer le glucose. Boucher soigneusement et agiter fréquemment pendant trente à quarante minutes.

Centrifuger rapidement, filtrer le liquide clair qui ne doit pas donner de réaction avec l' α naphthol.

Dosage. — Reprendre 11 cm^3 5 du filtrat qu'on place dans une fiole d'Erlenmayer de 250 cm^3 . Ajouter 5 cm^3 de solution de bichromate de potassium à 0 gr. 762 0/100 et 20 cm^3 de solution d'acide sulfurique composée de

$\text{So}^4 \text{H}^2$ pur	4 cc. 6
$\text{H}^2 \text{O}$	15 cc. 4

La fiole bouchée soigneusement à l'aide d'un bouchon de caoutchouc est portée au bain-marie à la température de 60° pendant quarante minutes.

Extraire le récipient du bain-marie. Ajouter 2 cc. de solution de

KI à 10 % et tirer l'iode en excès à l'aide d'une solution de $S^2 O^3 Na^2$ correspondant exactement à celle de $Cr^2 O^7 K^2$ employée.

Avant la disparition complète de l'iode, ajouter un peu d'empois d'amidon.

Opérer de la même façon avec un tube témoin. Le résultat est donné par la différence des deux dosages. 1 cm³ de la solution de $S^2 O^3 Na^2$ correspondant à 0 mmg. 35 d'acide lactique ou 0 gr. 35 par litre ⁽¹⁾.

3° Détermination de la phosphorémie.

Le dosage du P total comporte deux phases :

I°) La minéralisation du sang ;

II°) Le dosage du phosphore dans la liqueur de destruction.

I°) *Minéralisation du sang.* — Nous avons employé la méthode sulfo-nitrique ; dans un matras de Kjeldahl, introduire 1 cm³ de sang, 1 cm³ d'acide sulfurique pur et concentré et 1 à 2 cm³ d'acide nitrique. Mettre quelques perles de verre et chauffer sous la hotte avec un microbrûleur ; la flamme est maintenue douce et continue, la surchauffe pouvant donner des pertes importantes d'acide phosphorique. Quand les vapeurs nitreuses disparaissent, ajouter goutte à goutte de l'acide azotique pour éviter les projections ; recommencer dès que l'on voit apparaître des vapeurs blanches d'acide sulfurique qui succèdent aux vapeurs nitreuses brunes jusqu'à obtention d'un liquide clair incolore ou légèrement teinté en jaune paille. Laisser refroidir, ajouter 20 cm³ d'eau distillée, porter à l'ébullition pour chasser toute trace d'acide nitrique, laisser de nouveau refroidir.

II°) *Dosage du phosphore.* — Nous avons appliqué ici la méthode céruléo-molybdique de Denigès. La liqueur de destruction est diluée à 200 cm³ avec de l'eau distillée. Préparer une série de douze étalons de phosphore renfermant de 1 à 12 mmgr. de $P^2 O^5$ par litre ; pour cela diluer une solution-étalon de P contenant 1 gr. de $P^2 O^5$ par litre.

Disposer une série de 12 tubes Pyrex de même calibre, introduire dans chaque tube 5 cm³ de solution-étalon, diluer de façon

(1) Pour ce dosage il importe d'utiliser une microburette au 1/100.

à avoir dans les tubes de 1 à 12 mmgr. de $P^2 O^5$ 0/00 ; dans le treizième tube, introduire 5 cm³ de liquide de destruction dilué à 200. Ajouter aussi rapidement que possible 4 gouttes du réactif sulfomolybdique (mélange à parties égales de molybdate de NH^4 à 10 % et $So^4 H^2$ concentré, conservé à l'abri de la lumière), et après agitation 2 gouttes de solution de chlorure d'étain préparé extemporanément :

H Cl pur.....	2 cc ³
Sol. sulfate cuivre 10 %	1 goutte
Sn en feuilles	0 gr. 10

Agiter, attendre 10 minutes. Au bout de ce temps, comparer l'intensité du tube contenant le liquide de destruction du sang avec celle des tubes étalons ; prendre l'étalon le plus voisin et faire le dosage au microcolorimètre ; en multipliant le chiffre obtenu par 200 on obtient la quantité de P total exprimé en $P^2 O^5$ par litre.

4° Détermination de la phosphatémie.

Le dosage du phosphore inorganique s'effectue également en deux phases :

- a) Désalbumination du sang ;
- b) Dosage proprement dit.

Désalbumination. — Nous avons utilisé la désalbumination trichloracétique. Dans une éprouvette de 15 cm³ mettre 2 cm³ de sang total, ajouter 6 cm³ d'eau distillée, puis 2 cm³ d'acide trichloracétique à 20 %. Agiter, filtrer, effectuer le dosage aussitôt après l'obtention du filtrat, pour éviter l'enrichissement en orthophosphates qui peut se produire en milieu acide.

Dosage. — La méthode employée fut encore celle de la céruléo-molybdo-colorimétrie. Prélever 1 cm³ du filtrat dans un tube calibré Pyrex, ajouter 4 cm³ 2 d'eau distillée, et préparer la gamme-étalon comme pour le P total, de façon à avoir dans chaque tube-étalon 1, 2, 3, 4, 5, milligrammes 0/00 de $P^2 O^5$; compléter ces tubes à 5 cm³ avec de l'eau distillée et ajouter ensuite 0 cm³ 2 d'acide trichloracétique à 20 %, de façon à se trouver dans les mêmes conditions opératoires que dans le tube renfermant le sang désalbuminé.

Ajouter 4 gouttes de réactif sulfomolybdique de Denigès et 2 gouttes de solution de chlorure d'étain et doser par comparaison au colorimètre avec le tube-étalon le plus voisin.

En multipliant le résultat trouvé x par 10,9 on aura le taux des orthophosphates en milligrammes de P par litre, par 25 ou 34,5 les résultats en milligrammes de $P^2 O^5$ ou $PO^4 H^3$ par litre.

*
* *

Telle est la technique que nous avons utilisée pour le sang défibriné ; il ne peut en être de même pour le sang recueilli sur anticoagulant ; en effet, d'après J. Cayla, qui s'attacha particulièrement à l'étude de cette question, certaines substances, telles le fluorure de Na, l'oxalate, le citrate de Na, constituent des substances empêchantes et atténuent plus ou moins l'intensité de la couleur.

C'est ainsi que nous avons vérifié que la présence d'oxalate de soude à la dose de 10 o/oo diminuait l'intensité du bleu dans la proportion de 68 %.

De même, les propriétés du fluorure de sodium seraient multiples. D'après Cayla :

- 1°) Il retarderait la formation du bleu ;
- 2°) Il l'atténuerait ou l'inhiberait suivant la concentration ;
- 3°) Il stabiliserait le bleu qui se forme en sa présence.

Aussi, pour remédier à ces inconvénients, quand on désire effectuer un dosage de P minéral par la céruléo-molybdo-colorimétrie avec des sangs oxalatés ou fluorés, deux solutions sont à envisager :

- 1°) Calculer l'atténuation et faire la correction ;
- 2°) Former la gamme-étalon dans un milieu contenant une concentration en substance gênante égale à celle que contient le milieu à doser.

Nous avons de préférence utilisé le dernier procédé, c'est-à-dire que nous ajoutions à notre gamme-étalon, une quantité d'oxalate ou de fluorure Na correspondante à celle qui se trouvait dans le centimètre cube de filtrat sanguin prélevé pour le dosage.

La concentration de l'anticoagulant étant chaque fois fixée par nous-mêmes, l'opération devenait ainsi très simple et nous mettait à l'abri de toute erreur possible.

CHAPITRE II

INFLUENCE DES ANTICOAGULANTS SUR LA VITESSE DE LA GLYCOLYSE IN VITRO

La disparition du glucose dans un sang abandonné « in vitro » est un fait connu depuis très longtemps ; c'est Claude Bernard qui, le premier, en 1877, attira l'attention sur ce point en indiquant la nécessité de doser le glucose sanguin dans le plus bref délai après la ponction, si l'on voulait avoir un chiffre exact.

Il indiqua d'ailleurs certains composés susceptibles d'arrêter ou tout au moins d'atténuer cette glycolyse et conseilla l'emploi de l'acide phénique, du sulfate de soude et l'acide acétique.

Plus tard, en 1891, Arthus utilisa le fluorure de sodium au taux de deux grammes par litre.

Enfin, J. Roche, en 1929, et Dulcy, en 1934, étudiaient le phénomène glycolytique, le premier à la température de 38° pendant 24 heures, et le second à la température de 21° et trouvaient : que le fluorure de sodium à 2 gr. 0/00 inhibait complètement la glycolyse. Que l'oxalate de sodium à 4 gr. 0/00 la ralentissait, tandis que le citrate de sodium à 4 gr. 0/00 n'avait pas d'action sur elle, le sang citraté se comportant à peu près comme le sang défibriné.

Nous avons repris et développé les expériences de ces deux auteurs, et pour cela nous avons étudié l'action anticoagulante et antiglycolytique du citrate de soude, de l'oxalate et du fluorure de sodium, du sulfate de zinc et d'un produit nouvellement proposé, le polyanéthol sulfonate de sodium. Nos investigations ont porté sur une période plus longue que celle de Roche et de Dulcy et nous ont conduit à rechercher et à préciser outre l'influence de la concentration de l'anticoagulant employé, celles de la température et de la nature du sang expérimenté (sangs normaux hypo et hyperglycémiques).

I. — Action du citrate de soude

Le citrate de soude est généralement considéré comme anticoagulant à la dose de 2 gr. 0/00 ; cette concentration nous est apparue insuffisante ; en effet, dans plusieurs expériences où elle fut utilisée, nous nous sommes rendus compte que le sang se coagulait après un séjour de 48 heures à l'étuve à 38° ; aussi avons-nous particulièrement étudié les concentrations de 4 gr., 6 gr., 8 gr. 0/00. Notre protocole expérimental était le suivant : Des tubes stériles étiquetés renfermant la dose exactement pesée d'anticoagulant correspondant au volume du sang à recueillir étaient fortement agités après le prélèvement du sang fait avec le maximum d'asepsie sur des sujets normaux, hypo ou hyperglycémiques.

Un premier dosage était effectué au plus tard une demi-heure après la prise de sang ; les tubes soigneusement bouchés étaient ensuite placés les uns à l'étuve à la température de 38°, les autres à la température du laboratoire, de 18 à 20°. Tous nos dosages furent effectués par la méthode de M. Paget et Mlle Dupont, dérivant de celle de Baudoin-Lewin dont nous avons antérieurement indiqué le principe.

TABLEAU 1

Sang Citraté

Les résultats sont exprimés en grammes de glucose par litre de sang

Température 18°	Temps en heures	Concentration en citrate Na 0/00 de sang		
		4 gr. 0/00	6 gr. 0/00	8 gr. 0/00
	0 heure	1,57	1,59	1,62
	24 —	1,10	0,80	0,82
	48 —	0,68	0,64	0,65
	72 —	0,58	0,57	—
Température 38°				
	1 heure	1,40	1,35	1,30
	2 —	1	0,90	0,85
	20 —	0,35	0,25	0,23

TABLEAU 2

Les résultats sont exprimés en grammes de glucose par litre de sang

Température 18°	Temps en heures	Concentration en citrate Na o/oo de sang		
		4 gr. 0/00	6 gr. 0/00	8 gr. 0/00
	0 heure	0,68	0,68	0,68
	24 —	0,28	0,29	0,24
	48 —	0,09	0,08	0,08
Température 38°				
	1 heure	0,58	0,54	0,54
	2 —	0,48	0,54	0,52
	20 —	0,17	0,12	0,12

TABLEAU 3

Les résultats sont exprimés en grammes de glucose par litre de sang

Température 18°	Temps en heures	Concentration en citrate Na o/oo de sang		
		4 gr. 0/00	6 gr. 0/00	8 gr. 0/00
	0 heure	1,05	1,05	1,05
	24 —	0,35	0,40	0,38
	48 —	0,13	0,12	0,20
	72 —	0,05	0,04	0,06
Température 12°				
	24 —	0,80	0,78	0,84
	48 —	0,56	0,55	0,55
	72 —	0,13	0,14	0,16
Température 38°				
	1 —	0,93	1,05	1,05
	2 —	0,92	0,95	1,04
	20 —	0,08	0,16	0,16

TABLEAU 4

Les résultats sont exprimés en grammes de glucose par litre de sang

Température 20°	Temps en heures	Concentration en citrate Na 0/00 de sang		
		4 gr. 0/00	6 gr. 0/00	8 gr. 0/00
	0 heure	0,82	0,82	0,81
	24 —	0,20	0,15	0,12
	48 —	0,03	0,02	0,02
Température 38°				
	1 heure	0,56	0,64	0,81
	2 —	0,56	0,52	0,54
	4 —	0,20	0,12	0,14
	20 —	0,06	0,04	0,05

TABLEAU 5

Les résultats sont exprimés en grammes de glucose par litre de sang

Température 18°	Temps en heures	Concentration en citrate Na 0/00 de sang			
		4 gr. 0/00	6 gr. 0/00	8 gr. 0/00	10 gr. 0/00
	0 heure	1,50	1,54	1,55	1,55
	24 —	1,05	1,29	1,25	1,29
	48 —	0,69	0,70	0,88	—
Température 38°					
	1 heure	1,50	1,55	1,55	1,55
	2 —	1,46	1,55	1,53	1,55
	4 —	1,20	1,26	1,33	1,33
	20 —	0,34	0,35	0,30	0,80

TABLEAU 6

Les résultats sont exprimés en grammes de glucose par litre de sang

Température 18°	Temps en heures	Concentration en citrate Na o/oo de sang					
		4 0/00	Pertes %	6 0/00	Pertes %	8 0/00	Pertes %
	0 heure	1,14		1,14		1,14	
	24 —	0,60	47	0,58	49	0,56	50
	48 —	0,32	72	0,35	69	0,36	70
Température 38°							
	1 heure	0,99	13	1,02	10	1,05	8
	2 —	0,88	23	0,89	22	0,89	22
	20 —	0,20	82	0,18	84	0,17	85

Les tableaux 1, 2, 3, 4 et 5 condensent les principaux résultats acquis au cours de nos dosages, et le tableau 6 groupe les moyennes générales de nos différentes expériences ; leur lecture autorise les commentaires suivants :

a) *Influence de la température.* — Le tableau 3 est particulièrement suggestif à ce sujet. Il reproduit les chiffres que nous avons obtenus dans l'étude de l'évolution de la glycolyse des sangs citratés à 4, 6, 8 o/oo portés à des températures de 12, 18, 38°. Les pourcentages de baisse du glucose enregistrés après un séjour de 20 à 24 heures par exemple sont en fonction directe de la température envisagée.

Dans le sang citraté à 4 o/oo porté à 12° la baisse à la vingt-quatrième heure est de 23 % ; elle est de 66 % à 18° et de 92 % à 38°, et ce dès la vingtième heure.

Nous retrouvons les mêmes différences avec les sangs citratés à 6 et 8 o/oo.

Une conclusion s'impose donc : La température accélère la glycolyse — l'optimum d'action étant à 38° et des températures supérieures inhibant l'action enzymatique, comme l'ont montré des expériences antérieures de M. Paget.

b) *Influence de la concentration citratée.* — Les résultats trouvés dans les tableaux précédents nous donnent, à la température de 18° pour des concentrations respectives de 4 gr., 6, 8 o/oo, des baisses % de 47-49-50, alors qu'à 38° les pertes sont de 82-84-85 %.

Les chiffres variant dans le cadre des erreurs d'expérience admises, on peut estimer que la concentration du citrate n'a aucune action sur la glycolyse, aux températures comprises entre 18 à 38°.

c) *Influence du taux originel de la glycémie.* — Il nous a paru intéressant de comparer la moyenne des résultats de sangs citratés, normaux, hypo, et hyperglycémiques.

TABLEAU 7

Sangs hyperglycémiques

Les résultats sont exprimés en grammes de glucose par litre de sang

Température 38°	Temps en heures	Concentrat. de citrate en gr. par litre de sang					
		4 0/00	Pertes %	6 0/00	Pertes %	8 0/00	Pertes %
	0 heure	1,56		1,56		1,56	
	1 —	1,45	7	1,45	7	1,41	8
	2 —	1,10	30	1,32	21	1,20	22
	20 —	0,35	77	0,30	78	0,50	67
Température 18°							
	24 —	1,08	30	1,04	33	1,04	33
	48 —	0,69	55	0,77	51	0,77	51

TABLEAU 8

Sangs hypoglycémiques

Les résultats sont exprimés en grammes de glucose par litre de sang

Température 38°	Temps en heures	Concentr. de citr. en gr. 0/00 de sang					
		4 0/00	Pertes %	6 0/00	Pertes %	8 0/00	Pertes %
	0 heure	0,75		0,75		0,75	
	1 heure	0,57	24	0,60	23	0,68	10
	2 —	0,52	30	0,52	30	0,67	10
	20 —	0,12	84	0,08	89	0,08	89
Température 18°							
	24 —	0,24	69	0,23	69	0,18	76
	48 —	0,06	92	0,05	93	0,05	93

Les tableaux 7-8 font ressortir l'action freinatrice de l'anticoagulant sur la glycolyse du sang diabétique et mettent en évidence, au contraire, l'action favorisante du citrate dans les sangs hypoglycémiques. On peut chiffrer ces actions dissociantes en comparant les résultats obtenus dans ces cas à ceux fournis par l'étude des sangs normaux dont un cas typique est représenté dans le tableau 3.

	Temps en heures	Concentr. de citr. en gr. 0/00 de sang		
		4 0/00	6 0/00	8 0/00
Hyperglycémiques	24 heures	30	33	33
	48 —	55	51	51
Normaux	24 —	64	62	63
	48 —	87	88	80
Hypoglycémiques	24 —	69	69	76
	48 —	92	93	93

Les chiffres expriment la perte % subie dans chaque cas.

II. — Oxalate de soude

L'oxalate de soude est un des anticoagulants les plus employés ; son action anticoagulante s'exerce à partir de la dose de 2 gr. o/oo ; nous avons tenu à expérimenter comme précédemment la valeur antiglycolytique de ce produit avec des concentrations différentes ; celles-ci s'échelonnent entre 2, 4, 6, 8 et 10 gr. o/oo. Il nous faut noter dès maintenant qu'à ces diverses concentrations, l'oxalate s'est montré parfait anticoagulant. Nos essais s'espaçaient sur plusieurs jours et parfois même se prolongeaient une semaine. Or, nous n'avons pas constaté un cas de coagulation. Les résultats trouvés au cours de nos essais sont exposés dans les tableaux qui suivent :

TABLEAU 9

Température 38°	Temps en heures	Concentration d'oxalate en gr. o/oo de sang.				
		2 0/00	4 0/00	6 0/00	8 0/00	10 0/00
	0 heure	1,14	1,15	1,17	1,16	1 15
	1 h. 1/2	0,97	0,96	1,05	1,07	1,09
	20 —	0,32	0,38	0,81	0,85	0,86
Température 18°	24 heures	0,91	1 »	1,12	1,14	1,15
	48 —	0,68	0,83	0,96	1 »	1,02
	72 —	0,45	0,58	0,87	0,95	0,99
	96 —	0,29	0,25	0,76	0,90	0,96

TABLEAU 10

Température 38°	Temps en heures	Concentration d'oxalate en gr. o/oo de sang				
		2 0/00	4 0/00	6 0/00	8 0/00	10 0/00
	0 heure	0,98	0,985	1 »	0,98	1 »
	1 h. 1/2	0,80	0,92	0,93	0,95	0,95
	20 —	0,27	0,28	0,275	0,52	0,40
Température 18°						
	24 —	0,66	0,73	0,73	0,78	0,80
	48 —	0,45	0,66	0,66	0,64	0,70
	72 —	0,30	0,54	0,51	0,49	0,48
	96 —	0,14	0,25	0,18	0,20	0,21

TABLEAU 11

Température 38°	Temps en heures	Concentration en gr. oxalate o/oo de sang				
		2 0/00	4 0/00	6 0/00	8 0/00	10 0/00
	0 heure	0,99	1 »	1 »	1 »	1 »
	1 h. 1/2	0,70	0,94	0,95	0,94	0,95
	20 —	0,29	0,27	0,25	0,26	0,32
Température 18°						
	24 —	0,64	0,78	0,80	0,84	0,98
	48 —	0,65	0,73	0,76	0,81	0,95
	72 —	0,59	0,69	0,70	0,76	0,88
	96 —	0,13	0,12	0,16	0,24	0,82
	120 —	0,08	0,07	0,09	0,16	0,80

TABLEAU 12

Température 38°	Temps en heures	Concentration d'oxalate en gr. 0/00 de sang				
		2 %	4 %	6 %	8 %	10 %
	0 heure	0,96	0,96	0,96	0,96	0,96
	1 h. 1/2	0,78	0,86	0,85	0,85	0,86
	20 —	0,17	0,20	0,18	0,22	0,20
Température 18°						
	24 —	0,65	0,68	0,70	0,69	0,75
	48 —	0,50	0,58	0,55	0,61	0,65
	72 —	0,20	0,40	0,35	0,50	0,50
	96 —	0,09	0,14	0,16	0,15	0,24

TABLEAU 13

Température 38°	Temps en heures	Concentration d'oxalate en gr. 0/00 de sang				
		2 %	4 %	6 %	8 %	10 %
	0 heure	1,43	1,43	1,43	1,43	1,43
	1 h. 1/2	1,10	1,15	1,12	1,14	1,34
	5 —	0,88	1,01	1,10	1,15	1,30
	20 —	0,34	0,44	0,84	0,65	0,44
Température 18°						
	24 —	0,92	0,92	1,15	1,13	1,12
	48 —	0,67	0,82	0,86	0,99	1 »
	72 —	0,41	0,58	0,82	0,98	0,85
	96 —	0,24	0,20	0,80	0,92	0,26
	120 —	0,06	0,08	0,28	0,87	0,08

TABLEAU 14

Température 38°	Temps en heures	Concentration d'oxalate en gr. 0/00 de sang				
		2 %	4 %	6 %	8 %	10 %
	0 heure	2,20	2,20	2,20	—	—
	1 h. 1/2	2,06	2,09	2 »	2,05	2,07
	5 —	1,95	2,12	2,02	2,03	2,10
	20 —	0,45	1,35	1,34	1,21	1,13
Température 18°						
	24 —	2 »	2,15	2,12	2 »	1,01
	48 —	1,67	2,03	1,96	1,95	1,94
	72 —	1,55	1,78	1,80	1 81	1,80
	96 —	1,35	1,52	1,67	1,27	1,52

TABLEAU 15 (Résumé des Tableaux 9, 10, 11, 12, 13, 14).

Température 38°	Temps en heures	Concentration oxalate en grammes 0/00 de sang											
		2		4		6		8		10			
		0/00	Pert. %	0/00	Pert. %	0/00	Pert. %	0/00	Pert. %	0/00	Pert. %	0/00	Pert. %
	0 heure	1,29		1,30		1,28		1,29		1,30			
	1 h. 1/2	1,07	17	1,15	11	1,15	11	1,16	11	1,21	6 »		
	20 —	0,32	75	0,48	63	0,61	53	0,61	53	0,56	56,5		
Température 18°													
	24 —	0,96	25	1,04	20	1,10	15,5	1,10	15	1,13	12		
	48 —	0,75	42	0,94	27	0,96	25	1 »	24	1,04	20		
	72 —	0,58	55	0,77	40	0,84	35	0,91	29	0,80	30		
	96 —	0,37	71	0,41	68	0,62	52	0,62	52	0,66	48		

a) *Influence de la température.* — Ici, comme précédemment, cette influence est importante. C'est ainsi qu'en 20 heures à 38° nous trouvons aux concentrations :

	2 0/00	4 0/00	6 0/00	8 0/00	10 0/00
des pertes %	75	64	53	53	56
et en 95 heures à 18° pour les mêmes concentrations					
des pertes de	71	68	52	52	48

La baisse est donc à peu près cinq fois plus rapide à la température de 38° qu'à celle de 18°.

b) *Influence de la nature de l'anticoagulant.* — L'oxalate se révèle à l'examen du tableau 15 meilleur antiglycolytique que le citrate de soude. Il s'avérera supérieur au sulfate de zinc et au polyanéthol sulfonate de sodium, comme nous le verrons plus loin. Qu'il nous suffise de comparer ici les moyennes des pertes subies par des sangs normaux oxalatés à 4 0/00, citratés à 4 0/00, sulfatés à 4 0/00 et « liquoïdés » à 1 0/00.

Température 18°	Temps en heures	Pertes %			
		Oxalate	Citrate	Sulfate de zinc	Poly- néthol
	24 heures	27	64	46	81
	48 —	35	87	66	89

c) *Influence de la concentration de l'anticoagulant.* — Cette influence ne se manifestait guère dans les sangs citratés. Elle est, au contraire, assez sensible dans le cas des sangs oxalatés. C'est ce que nous avons nettement observé en étudiant la glycolyse sur des sangs oxalatés à 2, 4, 6, 8, 10 %.

Témoins quelques résultats relatifs à des sangs normaux étudiés à 18°.

Temps en heures	Concentration en gr. oxalate 0/00 de sang Pertes %				
	2 0/00	4 0/00	6 0/00	8 0/00	10 0/00
24 heures	35	27	26	23	16
48 heures	47	35	35	31	24

La vitesse de la glycolyse varie donc en raison inverse de la concentration de l'oxalate employée.

d) *Influence de la concentration glycémique originelle.* — Nous retrouvons ici le fait déjà noté à propos du sang citraté, c'est-à-dire un ralentissement de la glycolyse chez les hyperglycémiques ⁽¹⁾. Si nous comparons les résultats des tableaux 16-17, c'est-à-dire des sangs normaux et diabétiques traités dans les mêmes conditions, nous obtenons le pourcentage de baisse suivant :

Température 18°	en heures Temps	Pertes %				
		2 0/00	4 0/00	6 0/00	8 0/00	10 0/00
Hyper- glycémiques	24 heures	20	15	10	14	14
	48 —	33	22	22	18	18
Normaux	24 —	35	27	26	23	16
	48 —	47	35	35	31	22

TABLEAU 16 **Sangs hyperglycémiques**

Température 38°	Temps en heures	Concentration en gr. oxalate o/oo de sang				
		2 0/00	4 0/00	6 0/00	8 0/00	10 0/00
	0 heure	1,81	1,81	1,80	1,82	1,78
	1 h. 1/2	1,58	1,62	1,56	1,50	1,70
	5 —	1,41	1,56	1,56	1,59	1,70
	20 —	0,39	0,90	1,09	0,93	0,80
Température 18°						
	24 —	1,46	1,53	1,63	1,56	1,56
	48 —	1,12	1,42	1,41	1,47	1,47
	72 —	0,96	1,18	1,31	1,43	1,31
	96 —	0,80	0,86	1,23	1,10	0,89

(1) Nous croyons intéressant de rapporter ici d'autres essais assez curieux et dont nous ne prétendons pas élucider la signification biologique.

Nous avons pu disposer d'échantillons de sang fluoré prélevés dix minutes avant et une heure après l'injection intraveineuse de 50 cm3 de solution hypertonique de glucose (30 %). L'échantillon N° 2 accusait généralement une glycémie inférieure à la glycémie originelle; cette baisse étant la conséquence de l'insulino-sécrétion provoquée par l'introduction dans la circulation sanguine d'un excès de glucose.

Les chiffres exprimés sont en grammes de glucose par litre de sang. Donc, en étudiant la glycolyse des échantillons 1, 2 dans les tableaux A, B, C, nous avons pu remarquer une différence très nette dans l'évolution du glucose, l'action glycolytique de l'enzyme étant beaucoup plus entravée dans le sang N° 2 que dans le sang N° 1.

Il est difficile de ne pas rapprocher ce résultat de celui trouvé dans le sang diabétique. Il est très vraisemblable que la cause en est différente, bien que le phénomène ait des conséquences identiques. Nous posons le problème sans essayer d'en préciser le mécanisme qui fera d'ailleurs l'objet de recherches ultérieures dans le laboratoire du Professeur Paget.

TABLEAU A

Température 18°	N° 1	N° 2
1 ^{er} jour	0,92	0,89
2 ^e —	0,90	0,89
3 ^e —	0,93	0,90
4 ^e —	0,88	0,88
5 ^e —	0,68	0,78
6 ^e —	—	0,78
7 ^e —	—	0,79
		0,14

TABLEAU B

Température 18°	N° 1	N° 2
1 ^{er} jour	0,91	0,87
3 ^e —	0,90	0,82
4 ^e —	0,83	0,72
6 ^e —	0,23	0,70
7 ^e —	0,19	0,71
8 ^e —	—	0,71
10 ^e —	—	0,71

TABLEAU C

Température 18°	N° 1	N° 2
1 ^{er} jour	0,72	0,96
6 ^e —	0,67	0,95
7 ^e —	0,62	0,94
8 ^e —	0,62	0,87
10 ^e —	0,25	0,83
11 ^e —	0,06	0,74
12 ^e —	0,05	0,09

TABLEAU 17

Sangs normaux

Température 38°	Temps en heures	Concentration en gr. oxalate 0/00 de sang				
		2 0/00	4 0/00	6 0/00	8 0/00	10 0/00
	0 heure	0,98	0,97	0,99	1 »	0,98
	1 h. 1/2	0,76	0,90	0,91	0,91	0,92
	20 —	0,26	0,25	0,23	0,33	0,31
Température 18°						
	24 —	0,65	0,73	0,74	0,77	0,84
	48 —	0,53	0,65	0,65	0,69	0,76
	72 —	0,36	0,54	0,52	0,58	0,62
	96 —	0,12	0,17	0,14	0,20	0,42

Certains auteurs avaient déjà remarqué ce fait. En 1909, Lépine avait noté un ralentissement net de la glycolyse dans un cas de diabète spécialement étudié.

En 1923, Denis et Giles trouvent également que la glycolyse du sang de diabétique est beaucoup plus lente que celle de sujets normaux. Par contre, Tolstoï, en 1924, ne constate pas de diminution de la puissance glycolytique dans le sang d'individus hyperglycémiques.

Dulcy, en 1934, déclare que la glycolyse n'est pas ralentie chez le diabétique, mais simplement qu'elle est plus longue. « Il s'agit, dit-il, ici d'une diastase capable de transformer le glucose, or cette diastase peut dégrader, tant que la proportion de glucose est suffisante, une quantité fixe de glucose dans un temps donné et à une température donnée, et ceci ne varie pas parallèlement avec la concentration du glucose à cet instant ».

Nos essais semblent infirmer ce point de vue ; cependant, nous ne pensons pas qu'il y ait lieu d'attribuer le ralentissement de l'action glycolytique à une influence particulière de l'anticoagulant, mais plutôt à une propriété spécifique du sang diabétique.

III. — Action du fluorure de sodium

La concentration optimum est de 2 gr. o/oo. Excellent anticoagulant à ce taux, le fluorure de sodium l'est beaucoup moins à doses exagérées ; à 5 gr. et 10 % nous avons observé plusieurs cas de coagulations. Aussi nous nous sommes bornés à n'étudier que la glycolyse des sangs fluorés à 2 gr. o/oo.

TABLEAU 18

Température 18°	Temps	N° 1	N° 2	N° 3	N° 4	N° 5	N° 6
	0 heure	0,89	0,91	0,72	0,99	1,62	0,80
	1 jour	0,88	0,92	0,72	1 »	1,60	0,79
	2 —	0,89	0,90	0,71	1 »	1,60	0,78
	3 —	0,90	0,89	0,71	1 »	1,49	0,80
	4 —	0,88	0,90	0,70	0,93	1,50	0,81
	5 —	0,78	0,83	0,69	0,83	1,50	0,80
	6 —	0,76	0,23	0,67	0,72	1,51	0,80

Les résultats sont exprimés en grammes de glucose par litre de sang

TABLEAU 19

Moyenne des 6 cas précédents		
Temps		Pertes %
0 heure	0,99	0
1 jour	0,99	2
2 —	0,98	3
3 —	0,96	»
4 —	0,95	5
5 —	0,905	10
6 —	0,78	22

Le tableau 18 reproduit les résultats de six essais, et le tableau 19 en groupe les moyennes générales.

Leur lecture nous permet de conclure que pendant les premiers jours qui suivent le prélèvement, à la température de 18°, il n'y a pratiquement pas de modifications du taux de la glycémie originale

L'influence de la température se fait beaucoup moins sentir qu'avec tout autre anticoagulant. Après un séjour de 22 heures à 38°, un sang fluoré à 2 0/00 n'accuse aucun abaissement marqué de la concentration glucidique. Témoins les deux chiffres :

0 heure	1 gr. 12
22 heures	1 gr. 10

Le fluorure de sodium est donc le meilleur produit antiglycolytique dont nous disposons actuellement. Nos essais avec le sulfate de zinc et le polyanéthol sulfonate de sodium ne feront que confirmer ce point.

IV. — Action du sulfate de zinc

Plusieurs auteurs ont conseillé son emploi comme anticoagulant. Lumière et Couturier, puis Melon l'ont préconisé dans ce but à la dose de 0 gr. 5 0/00, déclarant que son pouvoir anticoagulant était vingt fois plus considérable que celui du citrate de soude.

Blitstein trouve dans le sulfate de zinc à la concentration de 1 gr. 0/00 un bon anticoagulant qui a l'avantage de ne pas donner de variations lors du dosage du P inorganique, contrairement aux oxalate, citrate et fluorure de sodium.

En vue d'apprécier la valeur antiglycolytique de ce produit, nous avons suivi son influence sur la glycolyse aux diverses concentrations de 0,5, 1 et 4 gr. 0/00.

Les différents essais que nous avons dès lors effectués nous ont montré que de toutes ces concentrations celle de 1 gr. 0/00 était la meilleure pour éviter la coagulation qui s'est produite, par contre, après un séjour de 48 heures à l'étuve à 38° pour les sangs sulfatés à 0 gr. 5 0/00 et 4 0/00. Malgré ces anomalies, nous avons cepen-

dant utilisé ces trois concentrations, en ne tenant compte que des essais où le sang sulfaté à ces diverses doses conservait toute sa fluidité.

C'est ainsi qu'en suivant les techniques de prélèvement et de dosage déjà décrites, nous sommes arrivés aux résultats suivants :

TABEAU 20

So⁴ Zn

Température 38°	Temps en heures	Concentrat. en gr. de sulf. de zinc o/oo de sang		
		0,5 0/00	1 0/00	4 0/00
	0 heure	0,85	0,85	0,85
	2 —	0,80	0,75	0,79
	4 —	0,62	0,68	0,79
	5 1/2 —	0,41	0,42	0,61
	20 —	0,13	0,13	coagulé
	24 heures	—	—	—
Température 18°				
	24 heures	0,30	0,42	0,59
	48 —	0,14	0,25	0,40

TABEAU 21

Température 38°	Temps en heures	Concentrat. en gr. de sulf. de zinc o/oo de sang		
		0,5 0/00	1 0/00	4 0/00
	0 heure	0,86	0,86	0,86
	3 1/2 —	0,46	0,46	0,70
	25 — ,	0,07	0,10	0,08
Température 19°				
	28 heures	0,27	0,40	0,55
	48 —	0,16	0,24	0,40

TABLEAU 22

So⁴ Zn

Température 38°	Temps en heures	Concentration en grammes o/oo de So ⁴ Zn		
		0,5 0/00	1 0/00	4 0/00
	0 heure	1	1	1
	2 heures	0,67	0,57	0,80
	20 heures	0,13	0,12	0,31
Température 24°				
	28 heures	0,09	0,16	0,65
	48 heures	0,06	0,05	0,36

TABLEAU 23

So⁴ Zn

Température 38°	Temps en heures	Concentration en grammes 0/00 de So ⁴ Zn		
		0,5 0/00	1 0/00	4 0/00
	0 heure	0,96	0,96	0,96
	5 —	0,67	0,67	0,67
	24 —	0,10	0,05	—
Température 21°				
	10 heures	0,28	0,06	0,22
	48 —	0,08	0,04	0,08

TABLEAU 24

So⁴ Zn

Température	Temps en heures	Concent. en gr. de So ⁴ Zn pour o/oo de sang					
		0,5 0/00	Pertes	1 0/00	Pertes	4 0/00	Pertes
38°	0 heure	0,92		0,92		0,92	
	3 heures	0,62	32 %	0,59	36 %	0,73	20 %
	24 —	0,11	88 %	0,10	89 %		
20°							
	26 heures	0,17	70 %	0,29	68 %	0,50	46 %
	48 heures	0,11	88 %	0,15	83 %	0,31	66 %

Les résultats sont exprimés en grammes de glucose par litre de sang

a) *Influence de la température.* — Le tableau 24, qui n'est que le résumé des tableaux 20, 21, 22, 23, démontre parfaitement l'influence de la température sur la glycolyse. A la concentration de 0,5 o/oo, par exemple, la baisse est de 88 % au bout de 24 heures de séjour à l'étuve à 38° ; elle n'a atteint ce même pourcentage qu'après 48 heures de séjour à 20°.

b) *Influence de la concentration.* — L'influence de la concentration d'anticoagulant utilisée est aussi à signaler. Elle s'accuse beaucoup plus aux températures basses ; peu marquée lorsque l'on compare les concentrations de 0,5 et 1 o/oo, elle apparaît plus évidente dans les sangs sulfatés à 4 o/oo. Malheureusement à cette dose le sulfate se révèle mauvais anticoagulant, aussi les expériences ne peuvent-elles être très concluantes.

V. — Action du polyanéthol sulfonate de sodium

Le polyanéthol sulfonate de sodium, également connu sous le nom de « liquoïd », a fait l'objet des recherches particulières de Edgard Zunz et de ses collaborateurs. Ces auteurs se sont d'abord appliqués à rechercher la quantité de polyanéthol sulfonate de sodium susceptible d'empêcher la coagulation du sang « in vitro »

et ont établi que les doses de 0 gr. 2 0/00 à 0 gr. 3 0/00 pouvaient parvenir à cet effet ; une dose inférieure amenant déjà un retard sérieux de la coagulation.

Ils ont, en outre, trouvé qu'avec une teneur de 0,025 à 0 gr. 2 0/00 la coagulation du plasma oxalaté recalcifié était retardée.

Le polyanéthol avait, en outre, l'avantage de ne provoquer ni trouble, ni précipité dans le sérum issu du plasma limpide et dans le plasma, quand la réaction du milieu est légèrement alcaline ; un précipité apparaissant, au contraire, si le milieu est acide.

Les propriétés anticoagulantes du polyanéthol « in vitro » dépendraient en partie de la formation d'un complexe entre cette substance et le fibrinogène.

Blitstein a étudié l'action du polyanéthol sur le dosage du P inorganique, des chlorures, la détermination du volume globulaire, etc..., et conclut en proposant l'adoption de ce produit pour la plupart des dosages des composés sanguins.

L'influence antiglycolytique du polyanéthol n'ayant pas encore fait l'objet de travaux, du moins à notre connaissance, nous avons cherché, en utilisant les doses de 0 gr. 10, 0 gr. 5 et 1 gr. 0/00, quel pouvait être son rôle à ces concentrations différentes, et nous sommes arrivés aux résultats suivants :

Polyanéthol sulfonate de Sodium

TABLEAU 25

Température 38°	Temps en heures	Concentrat. du polyanéthol 1.000 cm ³ de sang		
		0,10 0/00	0,50 0/00	1 0/00
	0 heure	0,86	0,86	0,86
	3 1/2—	0,52	0,55	0,52
	25 —	0,14	0,10	0,13
Température 18°				
	18 heures	0,30	0,35	0,34
	48 —	0,12	0,20	0,24

Les résultats sont exprimés en grammes de glucose par litre de sang.

TABLEAU 26

Température 35°	Temps en heures	Concentrat. du polyanéthol 1.000 cm ³ de sang		
		0,10 0/00	0,5 0/00	1 0/00
	0 heure	1	1	1
	3 1/2 —	0,65	0,51	0,57
	20 —	0,13	0,08	0,07
Température 24°				
	28 heures	0,32	0,14	0,10
	48 —	0,03	0,03	0,03

Polyanéthol sulfonate de Sodium

TABLEAU 27

Température 35°	Temps en heures	Concentrat. du polyanéthol 1.000 cm ³ de sang		
		0,10 0/00	0,50 1/00	1 0/00
	0 heure	0,96	0,96	0,96
	3 —	0,68	0,57	0,45
	24 —	0,08	0,08	0,05
Température 21°				
	25 heures	0,13	0,18	0,07
	48 —	0,07	0,07	0,05

TABLEAU 28

Température 38°	Temps en heures	Concentrat. du polyanéthol 1.000 cm ³ de sang		
		0,10 0/00	0,50 0/00	1 0/00
	0 heure	0,92	0,92	0,92
	3 —	0,65	0,58	0,60
	24 —	0,07	0,08	0,06
Température 21°	Temps en heures			
	24 heures	0,28	0,17	0,20
	48 —	0,08	0,07	0,08

TABLEAU 29

Polyanéthol sulfonate de Sodium

Température 38°	Temps en heures	Concentration du Polyanéthol 1.000 cm ³ de sang					
		0,1 0/00	P. %	0,5 0/00	P. %	1 0/00	P. %
	0 heures	0,94		0,94		0,94	
	3 —	0,625	34 %	0,55	41 %	0,54	42 %
	24 —	0,11	88 %	0,09	90 %	0,08	91 %
Température 21°	Temps en heures						
	26 heures	0,26	72 %	0,21	77 %	0,18	81 %
	48 —	0,07	92 %	0,09	90 %	0,10	89 %

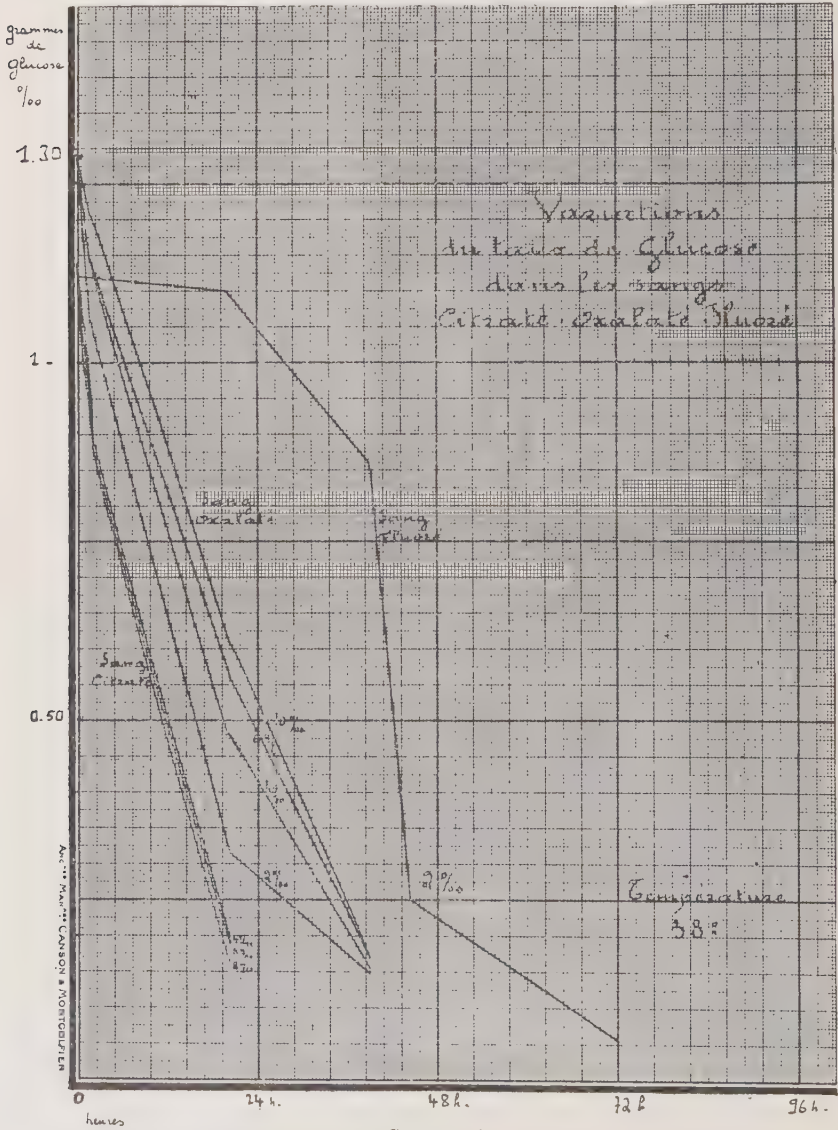
a) *Influence de la température.* — L'influence de la température ne peut être niée. Peut-être ne ressort-elle pas avec autant d'évidence que dans l'étude des sangs oxalatés, citratés, fluorés ; c'est que le polyanéthol étant un très mauvais antiglycolytique, la marche de la glycolyse même à la température ordinaire est déjà si rapide qu'il faudrait comparer les glycémies de sangs portés à diverses températures après des temps très courts pour pouvoir saisir une différence digne d'être soulignée.

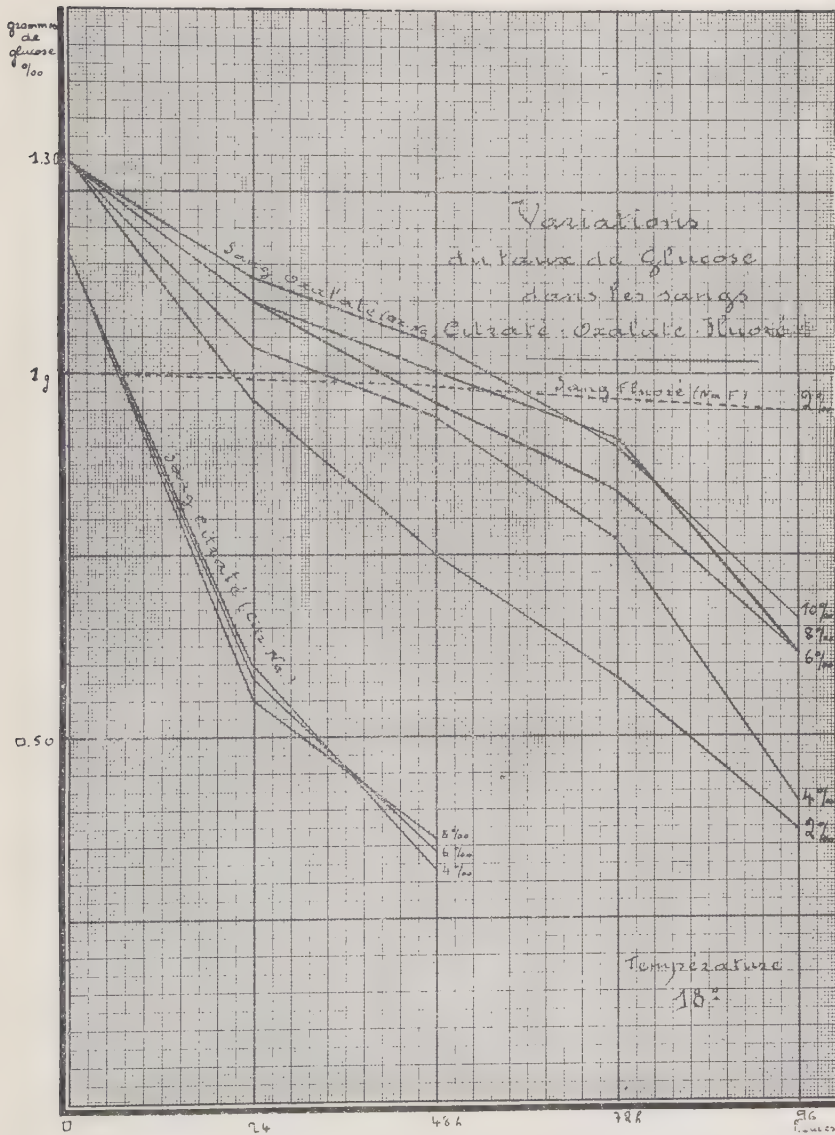
b) *Influence de la concentration.* — L'influence de la concentration est nulle. C'est ce qui ressort de l'examen du tableau 29. Les pertes % dans les sangs « liquoïdés » à 0 gr. 1, 0 gr. 5 et 1 0/00 étant respectivement de 88, 90, 91, à la température de 38° au bout de 24 heures et de 72, 77, 81 % pendant le même laps de temps.

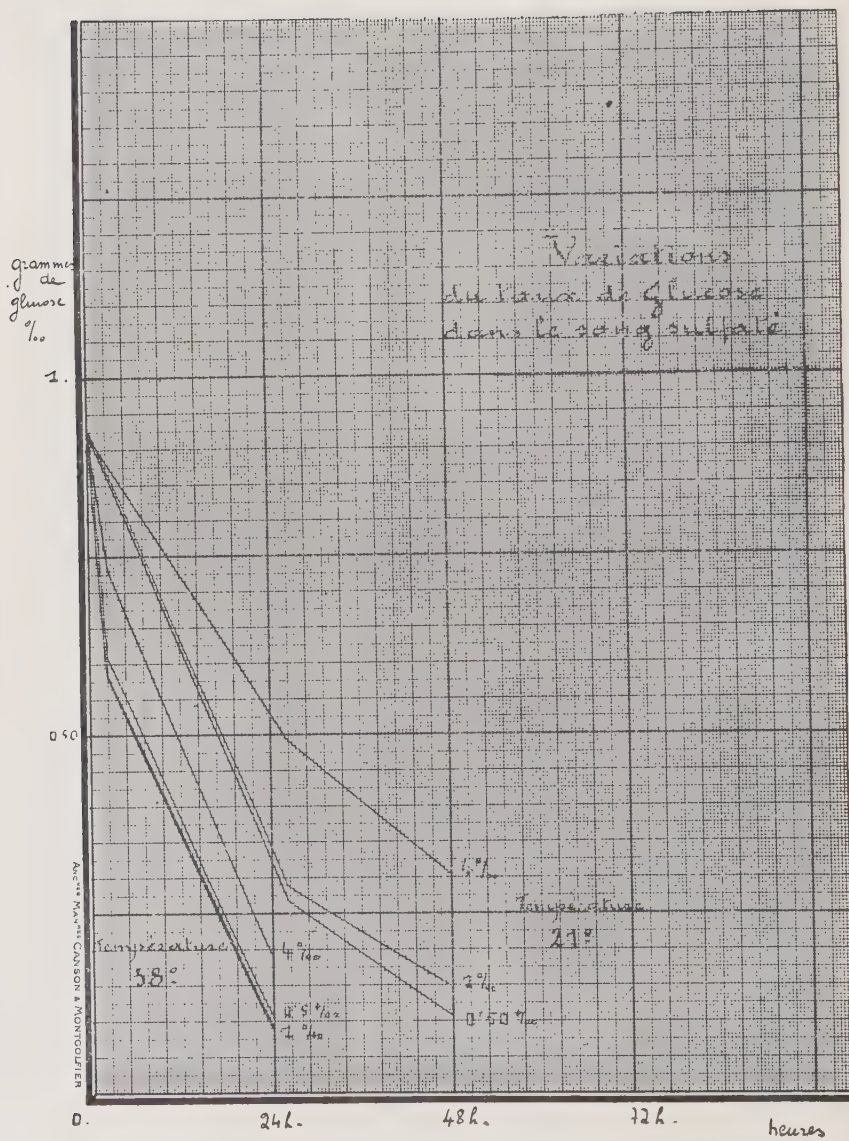
Elle s'exerce dans une direction opposée à celle de l'oxalate.

Nous avons établi plusieurs graphiques qui objectivent nos conclusions beaucoup mieux que ne pourrait le faire un résumé plus ou moins schématique.

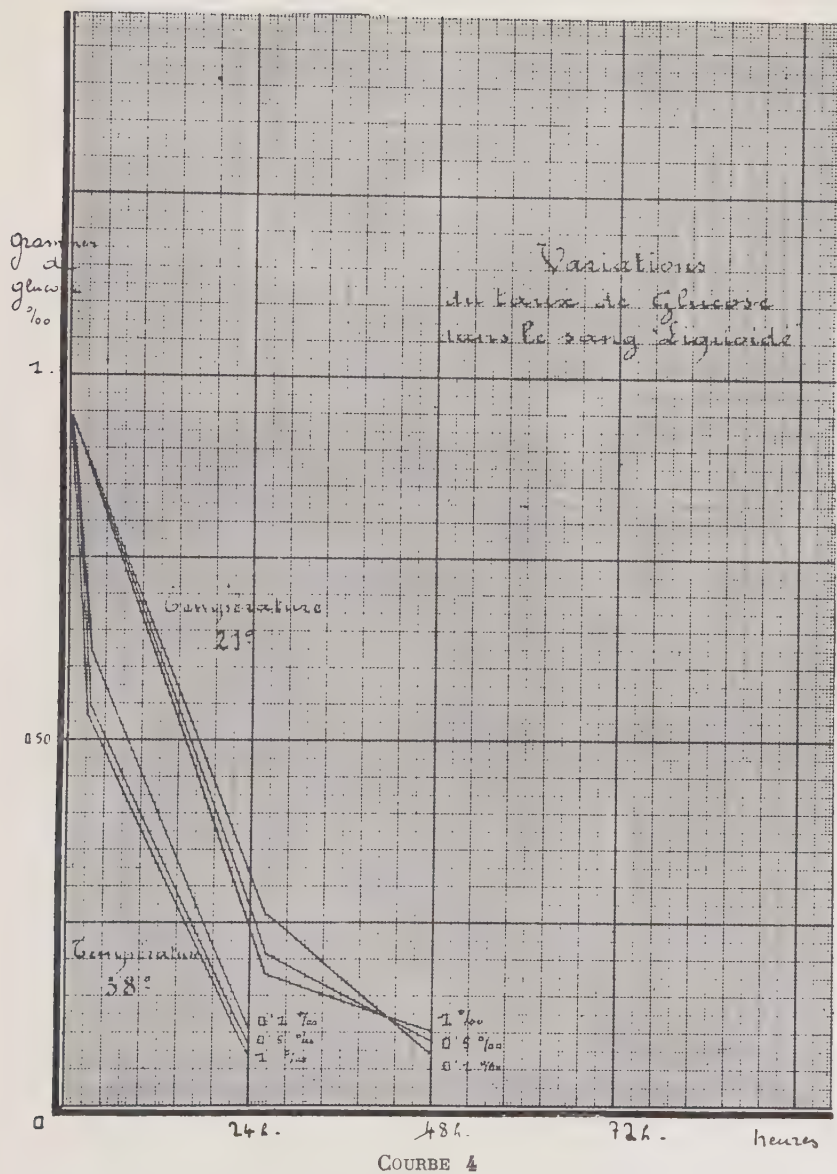
Les courbes que nous donnons condensent, en effet, tous nos essais.







COURBE 3



CHAPITRE III

INFLUENCE DES ANTICOAGULANTS SUR LE RAPPORT $\frac{\text{GLUCIDES GLOBULES}}{\text{GLUCIDES PLASMA}}$

La valeur du rapport $\frac{\text{glucides-globules}}{\text{glucides-plasma}}$ a déjà fait l'objet de nombreux travaux aux conclusions, hélas, très différentes. Dès 1908, Rona et Michaelis affirmaient que le sucre était également réparti entre le plasma et les globules et voyaient corroborer leur résultats par Hollinger. Puis Franck, à la suite d'études portant sur 30 sujets, était amené à conclure que le pourcentage en glucose était plus élevé dans le plasma que dans les hématies. Lyttkens et Sandgsen trouvaient ensuite que la concentration du glucose globulaire du lapin était négligeable. Van Creveld et Brinckmann aboutissaient aux mêmes conclusions.

Plus tard, Grigant-Brodin-Rouzand estimaient que la teneur en glucose des hématies était faible par rapport à celle du plasma.

En 1928, Somogyi, reprenant la question, trouvait que le rapport glucides globules-glucides plasma était égal à 0,79, ce rapport étant le même pour les sangs normaux et diabétiques. Folin, Svedberg n'étaient pas de cet avis, pour eux le rapport globulo-plasmatique était de 0,59 chez les individus normaux et de 0,69 chez les diabétiques.

Plus récemment enfin, Dumazert trouvait que ce rapport était voisin de 0,80 à l'état normal.

A notre tour, nous avons envisagé ce problème, en recherchant, en outre, l'influence des anticoagulants sur la répartition des glucides.

Les anticoagulants utilisés furent l'oxalate (6 o/oo), le citrate de soude (4 o/oo), le sulfate de zinc (1 o/oo), le polyanéthol sulfonate de sodium (0,1 o/oo) et le fluorure de sodium (2 o/oo). Nos expériences furent effectuées aux températures de 20-21° (température ambiante).

Le sang était recueilli aseptiquement, défibriné, et centrifugé une demi-heure après son prélèvement dans des tubes stérilisés. Le plasma était décanté et transvasé avec le maximum d'asepsie dans un tube stérile. Les hématies étaient également conservées aseptiquement.

Deux dosages de la glycémie étaient ensuite effectués, le premier une heure et demie ou deux heures après le prélèvement, le second vingt-quatre heures après.

Voici les résultats obtenus au cours de trois séries d'expériences :

I^o Température 21°

			2 heures	24 heures
Fluorure de sodium 2 0/00	{	Plasma	1,12	1,15
		Globules	0,92	0,40
Sulfate de zinc 1 0/00	{	Plasma	0,91	0,91
		Globules	0,71	0,70
Polyanéthol sulfonate de soude 0,1 0/00	{	Plasma	0,90	0,84
		Globules	0,61	0,18
Oxalate de soude 6 0/00	{	Plasma	1,12	1,01
		Globules	0,90	0,70
Citrate de soude 4 0/00	{	Plasma	0,92	0,93
		Globules	0,76	0,20

II^o Température 20°

			1 h. 1/2	24 heures
Fluorure de sodium 2 0/00	{	Plasma	0,97	1
		Globules	0,80	0,60
Sulfate de zinc 1 0/00	{	Plasma	0,92	0,99
		Globules	0,71	0,62
Polyanéthol sulfonate de soude 0,1 0/00	{	Plasma	0,88	0,83
		Globules	0,65	0,21
Oxalate de soude 6 0/00	{	Plasma	0,97	0,94
		Globules	0,76	0,42
Citrate de soude 4 0/00	{	Plasma	0,87	0,88
		Globules	0,68	0,19

III° Température 21°

			1 h. 1/2	24 heures	72 heures
Fluorure de sodium 2 0/00	{	Plasma	0,84	0,86	0,92
		Globules	0,70	0,71	0,30
Sulfate de zinc 1 0/00	{	Plasma	0,85	0,87	
		Globules	0,72	0,60	
Polyanéthol sulfonate de soude 0,1 0/00	{	Plasma	0,77	0,78	
		Globules	0,60	0,12	
Oxalate de soude 6 0/00	{	Plasma	0,86	0,82	0,83
		Globules	0,69	0,22	0,20
Citrate de soude 4 0/00	{	Plasma	0,83	0,85	
		Globules	0,60	0,17	

Si nous faisons la moyenne de ces trois essais, nous avons le tableau suivant qui résume l'action des divers coagulants sur la glycolyse en milieux plasmatiques et globulaires :

			1 h. 1/2	24 heures
Fluorure de sodium 2 0/00	{	Plasma	0,98	1
		Globules	0,805	0,57
Sulfate de zinc 1 0/00	{	Plasma	0,89	0,89
		Globules	0,71	0,64
Polyanéthol sulfonate de soude 0,1 0/00	{	Plasma	0,85	0,82
		Globules	0,62	0,17
Oxalate de soude 6 0/00	{	Plasma	0,965	0,92
		Globules	0,78	0,45
Citrate de soude 4 0/00	{	Plasma	0,87	0,89
		Globules	0,68	0,19

Ces divers résultats appellent quelques commentaires :

1° Valeur du rapport $\frac{\text{glucose globules.}}{\text{glucose plasma.}}$

Nous voyons que si l'on excepte les chiffres fournis par le sang « liquoïdé », le rapport oscille entre 0,78 et 0,82, ce qui est conforme aux chiffres de Somogyi et Dumazert.

Le sulfate de zinc à 1 0/00, l'oxalate de soude à 6 0/00, le citrate de soude à 4 0/00 ne semblent guère modifier la répartition du glucose entre hématies et plasma et leur action, si elle existe, n'est certainement pas plus accusée que celle du fluorure de sodium à 2 0/00.

Témoins les valeurs trouvées :

Fluorure de sodium 1 0/00	$\frac{G}{P}$	0,82
Sulfate de zinc 1 0/00	»	0,80
Oxalate de soude 6 0/00	»	0,79
Citrate de soude 4 0/00	»	0,78

Seul le polyanéthol sulfonate de sodium donne une valeur inférieure, 0,73, ce qui peut être imputé à son faible pouvoir anti-glycolytique.

2° Le rapport baisse très fortement, 24 heures après le prélèvement. L'explication en est simple : l'abaissement est, en effet, la résultante des intensités très différentes du phénomène glycolytique dans les hématies et le plasma. Parfois nulle, généralement très peu accusée, la glycolyse dans le plasma ne peut être comparée à celle qui se développe dans les hématies et qui est toujours très marquée.

Ce sont, en effet, les globules qui véhiculent les agents de la glycolyse. Nos expériences le démontrent sûrement. D'ailleurs, dès 1890, Lépine et Barral arrivaient à cette conclusion que l'obtention par centrifugation d'un sérum exempt d'éléments figurés permettait à ce dernier de garder intacte sa concentration glucidique même à la température de 39°

Loewy et Richter d'une part, Kahn d'autre part, trouvaient ensuite que l'activité glycolytique était fonction de la leucocytose, une hypo-leucocytose allant de pair avec une activité faible ; une hyperleucocytose entraînant, au contraire, une hyperactivité de la glycolyse.

Plus tard, Lépine vérifiait l'hypothèse de l'existence de diastases glycolytiques incluses dans les globules blancs, en faisant successivement des prélèvements dans un sang centrifugé à la partie supérieure du plasma, puis à celle avoisinant les globules, il trouvait plus de glucose dans la partie la plus éloignée des leucocytes. Il constatait, en outre, que la glycolyse était plus intense dans la portion globulaire (hématies) immédiatement voisine de celle des leucocytes que dans les portions éloignées.

Nos expériences apportent donc une corroboration à l'ensemble des opinions émises ci-dessus et nous autorisent, en outre, à conclure que les enzymes glycolytiques diffusent très lentement dans le plasma, car du sang fortement agité et centrifugé une demi-heure seulement après son prélèvement donne un plasma qui malgré la nature très variée des anticoagulants employés ne voit guère diminuer sa glucidémie après vingt-quatre heures de séjour à la température de 21°.

CHAPITRE IV

*Etude comparée de la glycémie, de la lactacidémie,
de la phosphatémie, au cours de la glycolyse « in vitro »*

INFLUENCE DE QUELQUES ANTICOAGULANTS

L'étude des produits de dégradation du glucose « in vivo et in vitro » a déjà fait l'objet de très nombreux travaux. Si les conclusions n'en sont pas toujours identiques, quelques acquisitions semblent cependant être définitives, telle la participation du phosphore au phénomène glycolytique et l'apparition de l'étape « acide lactique ».

Aussi, avons-nous pensé qu'il était intéressant d'étudier l'influence sur les stades définis de ce phénomène des anticoagulants qui s'étaient révélés dans notre étude antérieure comme étant les plus susceptibles de contrarier la glycolyse normale.

Nous avons donc été amenés à étudier simultanément et comparativement la glycémie, la lactacidémie et la phosphatémie dans les sangs oxalatés, fluorés et défibrinés.

*
**

Historique.

Il nous semble utile de rappeler ici les travaux effectués depuis une dizaine d'années, dans le but de rechercher les transformations ou combinaisons consécutives à la disparition du glucose.

En 1924, Bierry et Moquet déclaraient que tout se passe dans le sang « in vitro » comme si le glucose prenait la forme hexose-phosphorique dans les globules avant d'être transformé en acide lactique. En 1925, les mêmes auteurs ajoutaient que « avec une diminution du sucre libre, on peut constater une diminution plus ou moins importante du phosphore inorganique, d'où interprétation suivante : formation temporaire d'un composé organique du phosphore ». Cette combinaison étant surtout mise en relief dans des expériences portant sur du sang additionné de phosphates et de glucose.

En 1929, Jean Roche reprend ces essais et aboutit à des conclusions identiques : formation d'un éther phosphorique qu'il considère comme un acide hexose-phosphorique et dont la synthèse serait la première étape de la dégradation du glucose dans le sang, le tout se résumant dans le schéma ci-dessous.

$\text{Hexose} + \text{Po}^4 \rightarrow \text{ac. hexose-phosphorique} \rightarrow \text{PO}^4 + \text{Acide lactique}.$

Cette transformation se ferait en deux phases :

d'abord glycolyse forte : pas d'augmentation du phosphore minéral
puis glycolyse nulle ou faible : augmentation notable du phosphore.

Plusieurs auteurs se sont ensuite attachés à l'étude de la combinaison phosphorée.

Pour Rona et Iwasaki, cette combinaison ne serait pas un hexose-phosphate.

Jost invoque la transformation de l'hexose-phosphate en acide diphospho-glycérique, puis en acide lactique.

Pour Barrenscheen et Vászàrhelyi, il y aurait parallélisme entre le pouvoir glycolytique du sang et la teneur en pyrophosphates, la diminution des orthophosphates serait due à la formation des pyrophosphates qui sont transformés ensuite en fractions phosphorées plus stables et plus difficiles à hydrolyser : acides diphospho-glycériques et hexose-phosphates.

Barrenscheen et Braun déclarent que les pyrophosphates contiennent un co-ferment ou activateur de la glycolyse. L'arrêt de la glycolyse par addition du fluorure de sodium serait dû au dédoublement du pyrophosphate avec inactivation du co-ferment.

Enfin, pour Engelhardt et Braunstein, la formation du composé phosphorique pendant la glycolyse ne serait pas la condition nécessaire dans la dégradation du glucose, mais un phénomène concomitant.

D'autres acteurs ont envisagé spécialement la transformation du glucose en acide lactique.

Embden, Loiseleur, Morel ensuite, déclaraient trouver au cours de la glycolyse une quantité d'acide lactique sensiblement égale à celle du glucose disparu.

Cependant, J. Dulcy, en effectuant ses essais pendant 24 heures à 20°, ne trouvait jamais et de très loin, une quantité correspondante d'acide lactique.

Et, plus tard, Balachowski et Guinsbourg arrivaient aux conclusions suivantes :

Dans certains cas, on peut trouver une quantité d'acide lactique égale à celle de glucose disparu (surtout chez les hypoglycémiques).

Cependant, il y a rarement proportionnalité entre l'augmentation d'acide lactique et diminution de sucre, le sucre disparu peut réapparaître plus tard sous forme d'acide lactique.

Donc : 1° le sucre disparaît pour former un composé chimique qui n'est déterminé ni comme acide lactique, ni comme glucose, puis ce corps se transforme lui-même en acide lactique.

2° le sucre en disparaissant donne des produits autres que l'acide lactique.

3° une partie de l'acide lactique disparaît par suite de phénomène d'absorption.

4° l'acide lactique est détruit à la suite de phénomène de fermentation.

5° il y a pour l'acide lactique une autre source de formation que le sang.

*
**

Nos expériences : Leur protocole.

Le but de notre travail était d'observer des sangs humains normaux et pathologiques et d'étudier sur chacun d'eux, à une température convenable, les variations du glucose, du phosphore minéral, de l'acide lactique, sous l'influence de l'oxalate de sodium aux concentrations de 2, 4, 8, 10 grammes pour 1.000 ou du fluorure de sodium à 2 g. 0/00. Les résultats étaient comparés à ceux obtenus sur sangs défibrinés conservés dans les mêmes conditions.

Le protocole en usage pour cette série d'essais était le suivant : un certain nombre de tubes pyrex munis d'un repère indicateur du volume de sang à recueillir, étaient stérilisés, fortement bouchés et contenaient des billes de verre. Une même quantité de sang (environ 8 cm³) était versée aseptiquement à l'aide d'une seringue stérile dans chacun de ces tubes, qui étaient ensuite agités pendant 10 minutes, de manière à obtenir une bonne défibrination, puis une dose exactement pesée d'anticoagulant était placée dans la moitié des tubes, enfin le tout était porté à l'étuve à la température de 38 °.

Chaque jour, les dosages étaient effectués sur le sang défibriné et sur le même sang auquel on avait ajouté un pourcentage connu d'anticoagulant.

La quantité de sang recueilli dans chacun des tubes avait été calculée pour permettre un dosage simultané du glucose, du phosphore minéral et de l'acide lactique, notre méthode de désalbumination au ferrocyanure de potassium commune au glucose et à l'acide lactique nous donnant la possibilité d'opérer sur le même filtrat désalbuminé, d'où : économie de sang et plus grande rapidité dans l'exécution des divers dosages.

1. — Influence de la température

Nous avons pensé qu'il était nécessaire de rechercher d'abord l'influence de la température sur les différentes transformations observées au cours de la glycolyse pendant les jours qui suivent la ponction sanguine ; c'est ainsi que nous avons été amenés à comparer la marche de la glycémie, de la lactacidémie et de la phosphatémie dans des sangs défibrinés aux températures respectives de 9° et de 30°.

Les tableaux A et B, ainsi que les courbes 5 et 6 nous permettent de faire les commentaires suivants :

— 26 heures après le prélèvement à la *température de 9°*, la perte de glucose est de 0 gr. 42, l'acide lactique n'a pas subi de modification importante, puisque l'augmentation n'est que de six centigrammes, tandis que le phosphore minéral a diminué considérablement, passant de 38 à 24 milligrammes.

— 46 heures après, à la même température : faible baisse du glucose; le taux de la glycémie est encore de 0 gr. 99, la lactacidémie est de 0 gr. 35, tandis que l'inflexion initiale du phosphore s'est bien accentuée, la phosphatémie étant alors de 11 milligrammes, il faudra attendre cinq jours pour enregistrer une baisse importante de glucose, une augmentation notable d'acide lactique, qui passe de 0 gr. 22 à 0 gr. 54, et enfin un redressement du phosphore minéral qui n'est pourtant pas encore revenu à son taux initial.

TABLEAU A

Température 9°

	Glucose	Ac. Lactique	P
0 heure	1.62	0.22	0.038
22 heures	1.21	0.29	0.024
26 —	1.20	0.28	0.023
46 —	0.99	0.35	0.011
72 —	0.60	0.50	0.011
118 —	0.37	0.54	0.028

TABLEAU B

Température 30°

	Glucose	Ac. Lactique	P
0 heure	1.34	0.20	0.027
2 heures	1.10	0.23	0.023
4 —	1.01	0.27	0.0316
21 —	0.14	0.36	0.0748
26 —	0.07	0.73	0.167
45 —	0.03	0.25	0.220
50 —	0.02	0.22	0.282
70 —	0.01	0.17	0.228

L'examen d'un sang présentant les mêmes caractéristiques, mais étudié à la *température de 30°*, se comporte, par contre, de façon bien différente (voir courbe 6).

Pendant les deux heures qui suivirent le prélèvement, il s'est produit une chute rapide du glucose, une inflexion notable du phosphore inorganique, alors que l'acide lactique n'a pas subi de changement. Un dosage du phosphore minéral, effectué quatre heures après le dosage initial, accuse déjà un début de phosphominéralisation. 26 heures après, l'augmentation du phosphore est considérable, elle est passée de 27 à 167 milligrammes ; il en est de même pour la lactacidémie qui est montée de 0 gr. 20 à 0 gr. 73, alors que le glucose a presque complètement disparu. Puis le taux d'acide lactique a diminué progressivement pour arriver à un chiffre inférieur à celui du début, et le phosphore minéral est passé par un maximum pour retomber légèrement, 20 heures après.

On pourrait, dès maintenant, remarquer que si l'acide lactique n'atteint son taux le plus haut que lorsque la phosphominéralisation est déjà importante, la lactacidolyse est presque terminée quand le phosphore organique est toujours en voie de minéralisation.

Mais ces résultats nous permettent surtout de constater que la *température joue un rôle considérable dans l'évolution des divers composés dosés au cours de la glycolyse « in vitro »*.

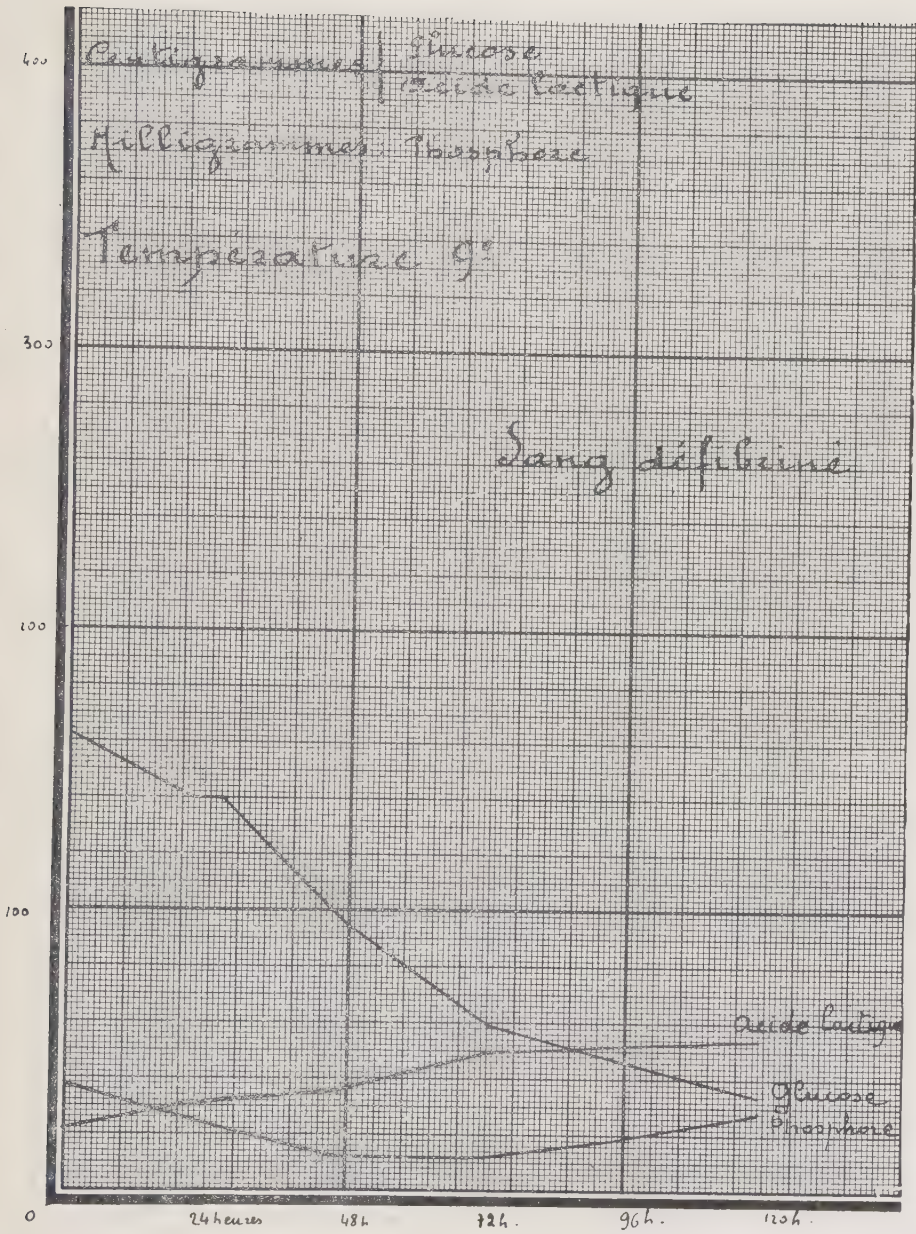
a) A la *température de 9°*, l'inflexion initiale du phosphore minéral paraît beaucoup plus importante et plus longue qu'à 30° ; par contre, la baisse du glucose et l'augmentation de l'acide lactique semblent identiques dans chacun des cas observés, il n'y aurait qu'une différence de rapidité s'exerçant dans le rapport de 1 à 5.

b) La *température de 30°* nous permet de suivre plus facilement le cycle des transformations glycolytiques, l'acide lactique passe par un maximum pour retomber, trois jours après, à un taux inférieur à celui du début. Ce taux, quand il passe au maximum, ne compense pas et de loin la perte du glucose disparu, fait observé déjà par Dulcy.

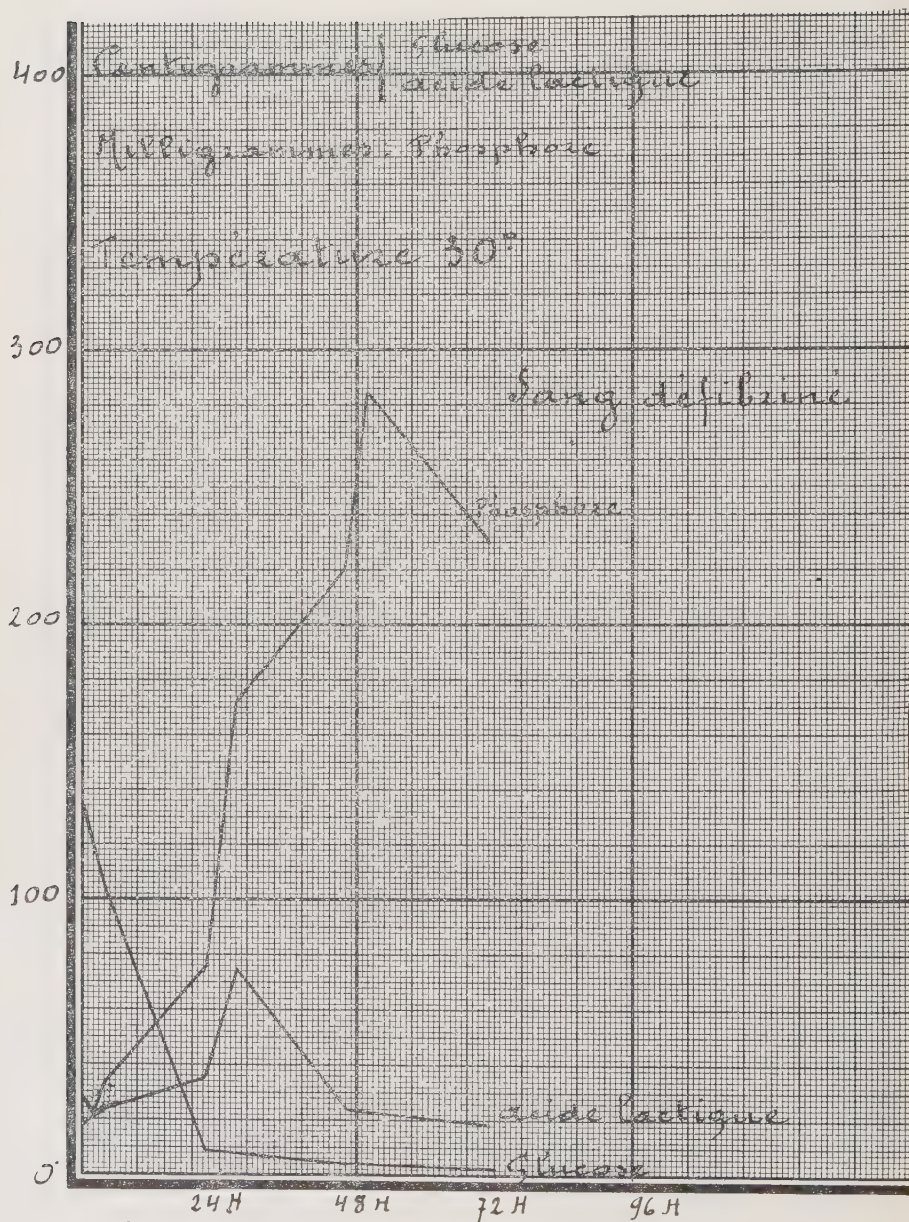
On constate également, à cette température, que l'inflexion initiale du phosphore minéral se produit au moment où la baisse de la glycémie est la plus considérable.

Perte de glucose pendant les 2 premières heures : 0 gr. 24

Perte de phosphore pendant les 2 premières heures : 0 gr. 004



Courbe 5



Courbe 6

Enfin le phosphore minéral passe, lui aussi, par un maximum : 282 mmgr., pour se maintenir toujours à un taux supérieur à celui du début :

0 heure	27 milligrammes
50 "	282 " "
70 "	228 " "

Ces résultats nous ont décidé à effectuer dorénavant nos essais à des températures voisines de 30°, températures qui nous permettront de suivre plus facilement le cycle des transformations au cours de la dégradation du glucose.

C'est ainsi qu'en suivant la technique exposée plus haut, nous avons poursuivi l'étude de sangs provenant d'individus normaux, cardiaques, hyper et hypoglycémiques, en comparant chaque fois le sang défibriné et le même sang contenant une quantité déterminée d'anticoagulant.

II. — Sang normal

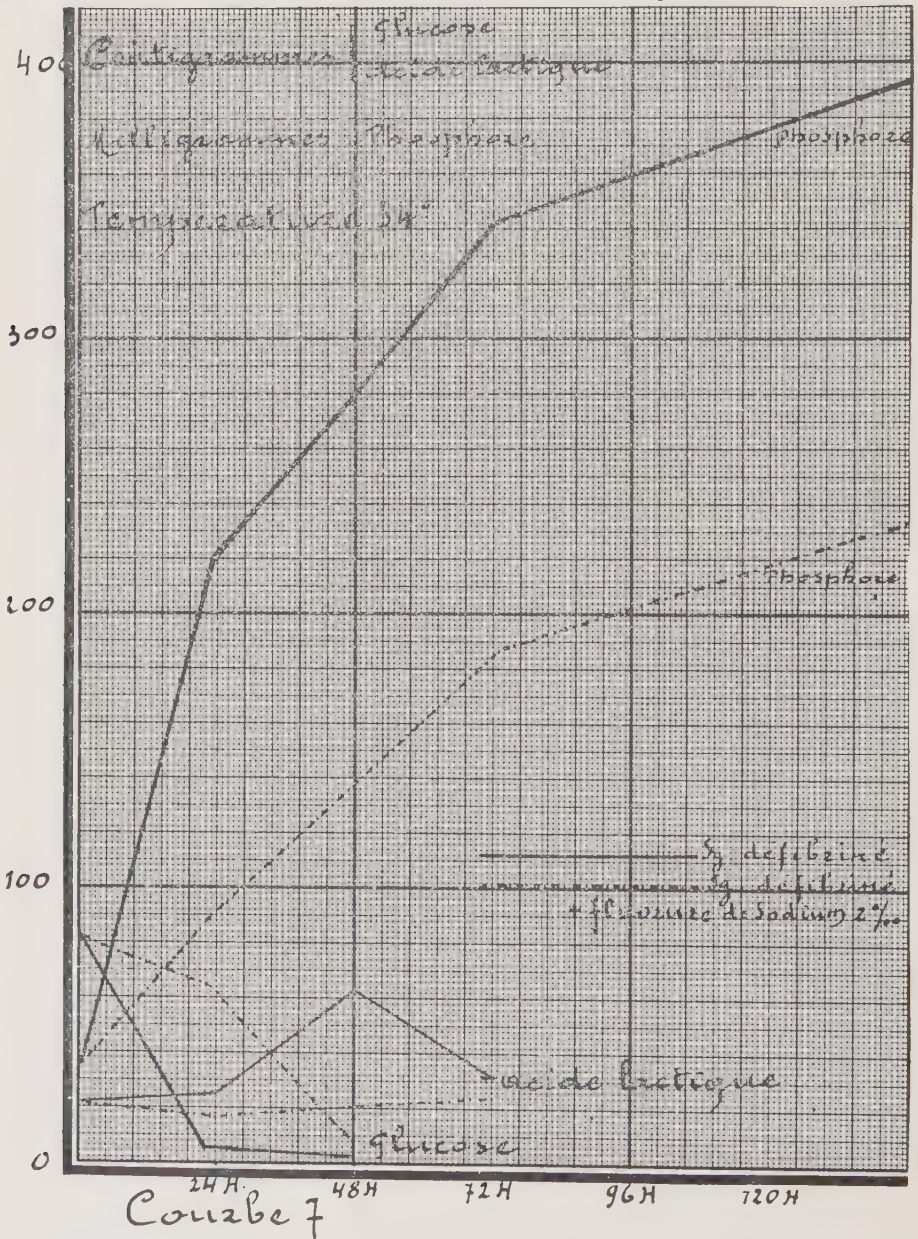
Le tableau C et la courbe 7 représentent le cas d'un individu normal dont la glycémie originelle est de 0 gr. 85.

a) Dans le sang *défibriné*, la chute du glucose est rapide, l'augmentation d'acide lactique notable au bout de 48 heures, s'abaisse ensuite rapidement. La phosphominéralisation est progressive, le septième jour, on remarque qu'elle atteint 393 milligrammes, alors que le taux originel de phosphore minéral était de 37 milligrammes.

b) L'étude du même sang auquel on a pris soin d'ajouter, dès le début, 2 0/00 de fluorure de sodium est intéressante en plus d'un point. Comme nous l'avons montré précédemment, lors de l'étude des anticoagulants, la chute de la glycémie est faible après 23 heures, à la température de 34°

Sang défibriné	0 heure	23 heures
	0,85	0,06
» + NaF	0,85	0,65

De même, l'action du fluorure sur la lactacidémie se manifeste sur la courbe 7 par une légère inflexion au début, puis par une augmentation assez peu sensible.



Le fluorure de sodium à 2 gr. o/oo bloque donc l'acide lactique comme le glucose, puisque les variations de ce corps en 24 heures et 72 heures sont à peine sensibles.

Par contre, les courbes de phosphominéralisation du sang défibriné et du sang défibriné fluoré ont les mêmes tendances ; l'anticoagulant, dans le cas du fluorure, semble jouer un rôle de ralentissement assez sensible, mais tout porte à croire que si nos expériences avaient pu être poussées au delà de sept jours, les chiffres trouvés dans les deux cas envisagés auraient été correspondants.

TABLEAU C

Température 34°

	Sang défibriné			Sang défibriné + Na F 2 0/00		
	Glucose	Ac. Lact.	P.	Glucose	Ac. Lact.	P.
0 heure	0.85	0.22	0.0376	0.85	0.22	0.0376
23 heures	0.06	0.24	0.218	0.65	0.19	0.090
48 —	0.03	0.63	0.282	—	—	—
72 —	0.	0.36	0.342	0.	0.25	0.184
7 jours	0.	—	0.393	0.	—	0.233

III. — Sangs d'insuffisants cardiaques

L'anticoagulant utilisé fut l'oxalate de sodium à concentration de 8 gr o/oo concentration que nous avons trouvée précédemment la meilleure pour éviter la glycolyse.

Dans les deux cas que nous avons pu observer, les glycémies étaient bien différentes puisque le taux initial de glucose était de 0 gr. 92 et de 0 gr 69. Or, si la chute du glucose est nettement ralentie dans le sang oxalaté, elle est quand même un peu plus rapide dans le sang hypoglycémique, conformément à ce que nous avons constaté dans la première partie de ce travail.

Cependant, l'examen des graphiques 8 et 9 nous montre deux courbes identiques quant à l'évolution de l'acide lactique et du phosphore.

En effet, l'acide lactique augmente dans le sang oxalaté comme dans le sang défibriné.

I. — Sang défibriné		II. — Sang défibriné + Oxalate de 8 0/00	
Acide lactique	Glucose	Acide lactique	Glucose
A 0,25	0,92	0,25	0,92
0,43	0,04	0,35	0,12
B 0,24	0,69	0,24	0,69
0,52	0,09	0,40	0,13

Cette augmentation d'acide lactique paraît ainsi plus importante dans le sang de l'individu hypoglycémique, conformément aux travaux de Balachowski et Guinsbourg ; elle n'en est pas moins sensible dans les deux cas, nous en concluons que l'oxalate de soude à une telle concentration ne bloque pas l'acide lactique comme le fluorure de sodium, mais qu'il exerce simplement une action freinatrice.

Si nous comparons, par contre, les courbes de phosphominéralisation dans les mêmes cas, nous constatons l'influence énorme de l'anticoagulant employé.

Premier essai		
Temps	Sang défibriné	Sang défibriné + Oxalate de 8 0/00
	Phosphore minéral	Phosphore minéral
0 heure	38 mmgr.	38 mmgr.
2 h. 1/2	29,5 »	42 »
48 heures	272 »	68 »

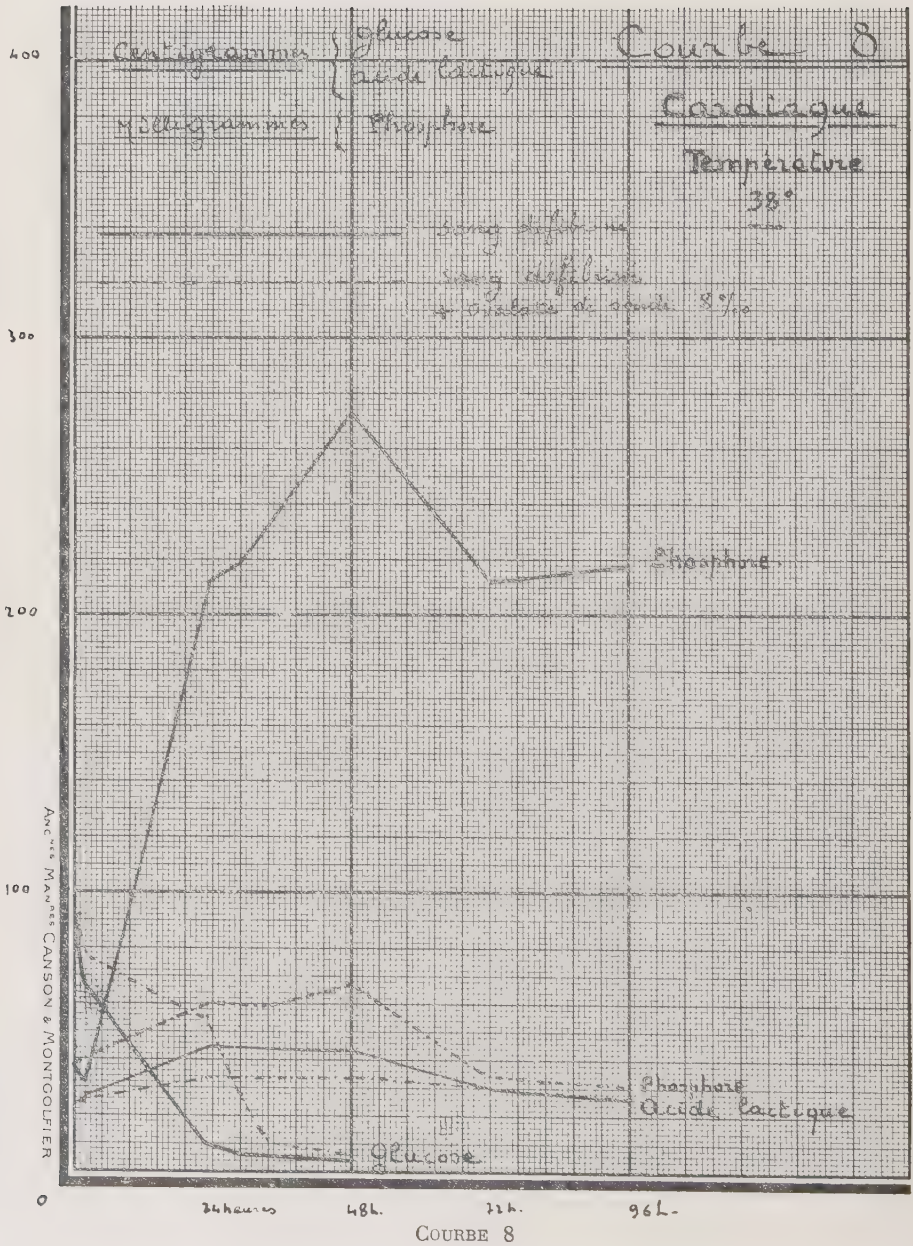
Deuxième essai		
Temps	Sang défibriné	Sang défibriné + Oxalate de 8 0/00
	Phosphore minéral	Phosphore minéral
0 heure	23,4 mmgr.	23,4 mmgr.
3 heures	40 »	45 »
24 heures	376 »	85 »

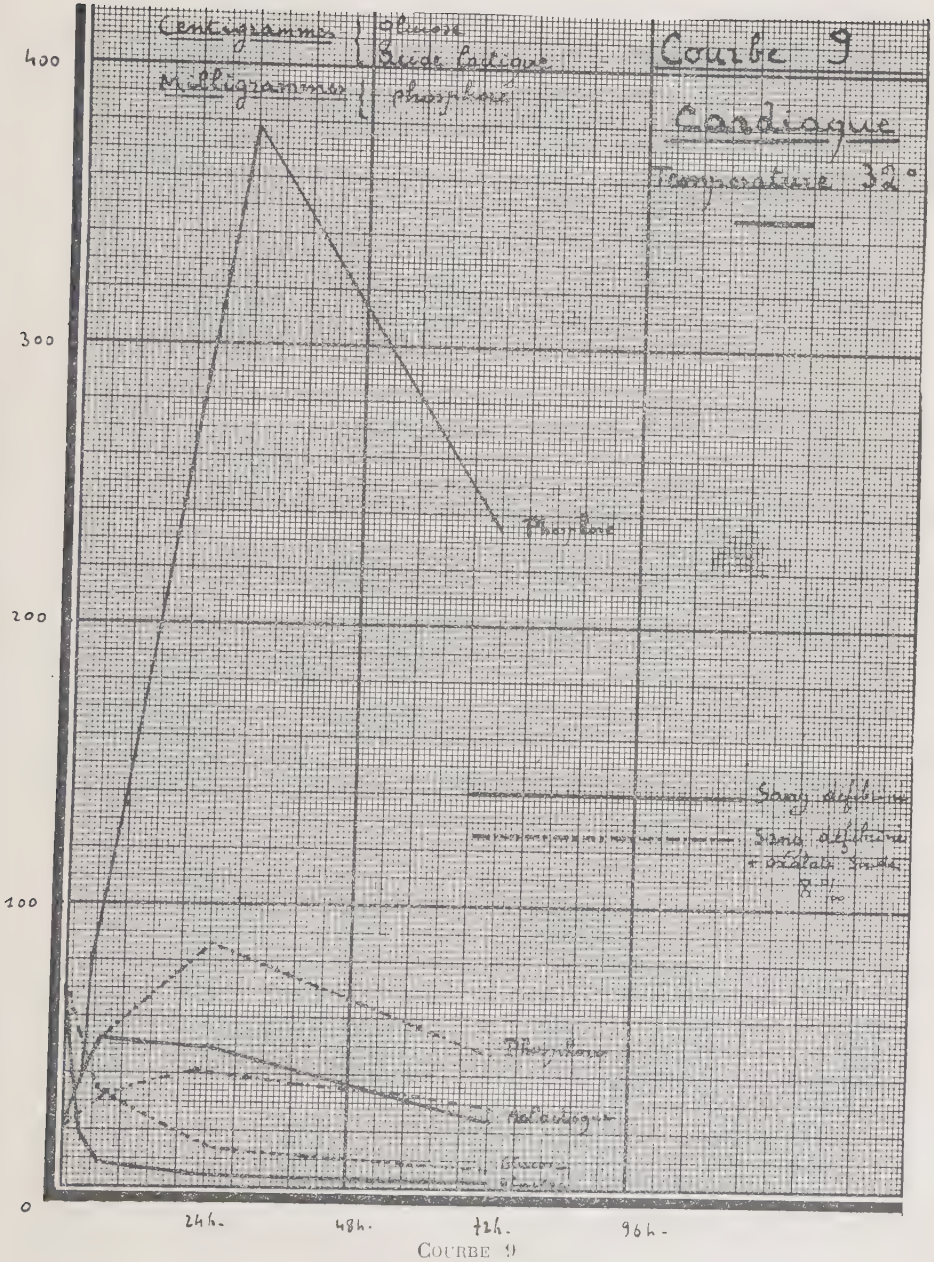
Ces chiffres nous autorisent à déclarer que :

1° L'inflexion initiale du phosphore inorganique dans le sang défibriné ne se retrouve pas dans le sang oxalaté. Sans doute, cette inflexion ne s'est pas produite dans le deuxième essai du sang défibriné, mais tout porte à croire que la baisse du phosphore a dû s'effectuer très rapidement dans le sang hypoglycémique, le maximum de phosphominéralisation étant, en effet, atteint en 24 heures dans le sang n° 2, alors qu'il l'est en 48 heures dans le premier cas.

2° Cependant, si en aucun cas envisagé ici et plus loin nous n'avons eu l'occasion de constater de baisse de phosphore dans du sang oxalaté, nous devons remarquer que la minéralisation du phosphore, brusque au début, se ralentit très vite, puis s'arrête, le maximum atteint se trouve être, en effet, dans chacun des sangs considérés, de 68 et 85 milligrammes pour les oxalatés, et de 272, 376 pour les mêmes sangs défibrinés.

Sans doute, l'oxalate à une telle concentration est une substance empêchante pour la coloration dans la méthode de céruléo-molybdométrie, mais les corrections ayant été apportées au dosage, comme nous l'avons expliqué lors de l'exposé de nos techniques ; nous devons constater que l'oxalate Na à la dose de 8 g. 0/00 empêche ou du moins ralentit considérablement la transformation du phosphore inorganique en phosphore minéral, particulièrement dans le cas des sujets atteints d'insuffisance cardiaque.





III. — CARDIAQUE

TABEAU D

Température 32°

Sang défibriné				Sang défibriné + Oxalate Na 8 0/00			
	Glucose	Ac. Lact.	P.	Glucose	Ac. Lact.	P.	
0 heure	0.69	0.24	0.0234	0.69	0.24	0.0234	
3 heures	0.20	0.40	0.040	0.50	0.29	0.045	
6 —	0.09	0.52	0.0872	0.37	0.32	0.055	
24 —	0.06	0.50	0.376	0.13	0.40	0.085	
72 —	0	—	0.235	0	0.24	0.047	

IV. — TR. CARDIAQUE

TABEAU E

Température 38°

Sang défibriné				Sang défibriné + Oxalate Na 8 0/00			
	Glucose	Ac. Lact.	P.	Glucose	Ac. Lact.	P.	
0 heure	0.92	0.25	0.038	0.92	0.25	0.038	
2 h. 1/2	0.68	0.32	0.0295	0.77	0.30	0.042	
23 heures	0.32	0.42	0.212	0.56	0.32	0.0585	
28 —	0.05	0.43	0.218	0.12	0.35	0.060	
48 —	0.04	0.43	0.272	0.04	0.34	0.068	
72 —	0.02	0.32	0.215	0.03	0.32	0.0294	
90 —	0.02	0.31	0.218	0.02	»	0.030	

IV. — Influence de la teneur glycémique initiale

Il nous a paru intéressant d'envisager l'action de l'oxalate de Na employé à la même concentration que dans les essais précédents, c'est-à-dire à 8 0/00 et 10 0/00, sur des sangs provenant d'individus hypo ou hyperglycémiques dont la teneur en glucose variait de 2 g. 35 à 0 g. 60.

Les résultats trouvés dans ces différents essais sont groupés dans les tableaux F, G, H, et représentés par les courbes 10, 11, 12.

Nous signalons l'influence de l'oxalate à 8 0/00 sur le ralentissement de la glycolyse dans les sangs hypo et hyperglycémiques, les chiffres trouvés correspondant à ceux qui sont exposés dans la

première partie de ce travail, mais nous notons surtout que les courbes de l'acide lactique dans les trois cas envisagés sont rigoureusement identiques, montrant chaque fois le rôle de ralentissement et d'atténuation de l'oxalate.

	1	2	3
Sang défibriné	0 g. 45	0 g. 50	0 g. 27
Sang défibriné + oxalate	0,31	0,44	0,22

Nous signalons encore le taux de l'acide lactique plus élevé dans le sang de l'hypoglycémique que dans celui du diabétique.

Diabétique	0,21
	0,45
Hypoglycémique	0,29
	0,50

Si maintenant nous envisageons l'évolution de la phosphatémie, nous constatons que l'influence de l'oxalate à 8 0/00 paraît moindre dans les tableaux F, G, H, que dans les tableaux D, E, étudiés précédemment. Les courbes 10, 11, 12 indiquent bien, dans le cas présent, un ralentissement important de la phosphominéralisation, puisque celle-ci est respectivement de 383, 300 et 336 milligrammes dans les sangs défibrinés et de 82, 116, 107 milligrammes dans les mêmes sangs oxalatés, mais des essais prolongés pourraient nous expliquer si l'action de l'oxalate est retardatrice ou empêchante. C'est ce que nous allons considérer dans le chapitre qui suit.

V. — DIABÉTIQUE

TABLEAU F

Température 38°

Traitement à l'insuline depuis 6 semaines 30 unités

	Sang défibriné			Sang défibriné + Oxalate Na de 8 0/00		
	Glucose	Ac. Lact.	P.	Glucose	Ac. Lact.	P.
0 heure	2.35	0.21	0.0327	2.35	0.21	0.0327
2 h. 1/2	2.20	0.26	0.0305	2.25	0.19	0.032
22 heures	0.72	0.42	0.212	2.08	0.31	0.0665
30 —	0.25	0.45	0.218	2.06	0.315	0.068
56 —	0.09	0.37	0.268	1.25	0.26	0.073
80 —	0.04	0.31	0.383	0.78	0.25	0.082

VI. TABLEAU G Température 28-30°

Sang défibriné				Sang défibriné + Oxalate de 8 0/00			
	Glucose	Ac. Lact.	P.	Glucose	Ac. Lact.	P.	
0 heure	0.62	0.20	0.0367	0.62	0.20	0.0367	
5 heures	0.30	0.19	0.0583	0.475	0.17	0.060	
24 —	0.06	0.20	0.240	—	—	—	
48 —	0.02	0.27	0.336	0.06	0.22	0.114	
72 —	0.01	0.19	0.272	—	—	—	
96 —	0.02	0.12	0.270	0.	0.14	0.116	

TABLEAU H Température 35°

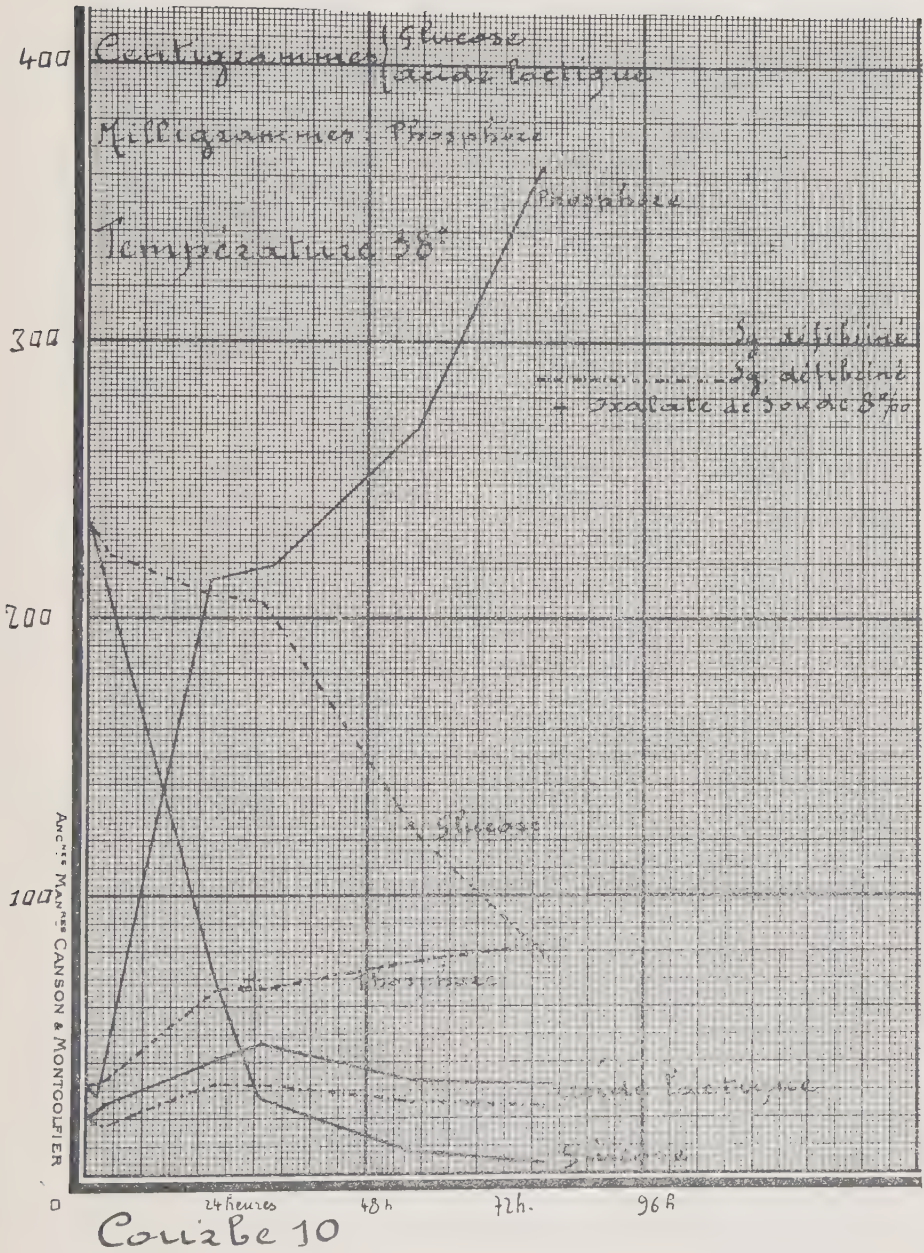
Sang défibriné				Sang défibriné + oxalate de 10 0/00			
	Glucose	Ac. Lact.	P.	Glucose	Ac. Lact.	P.	
0 heure	0.71	0.19	0.0452	0.71	0.19	0.045	
3 heures	0.50	0.22	0.0414				
24 —	0.12	0.50	0.2398				
48 —	0.04	0.31	0.300	0.05	0.44	0.107	
72 —	0.	0.14	0.272	0.	0.18		
6 jours			0.262				
7 jours			0.273				
8 jours			0.285				

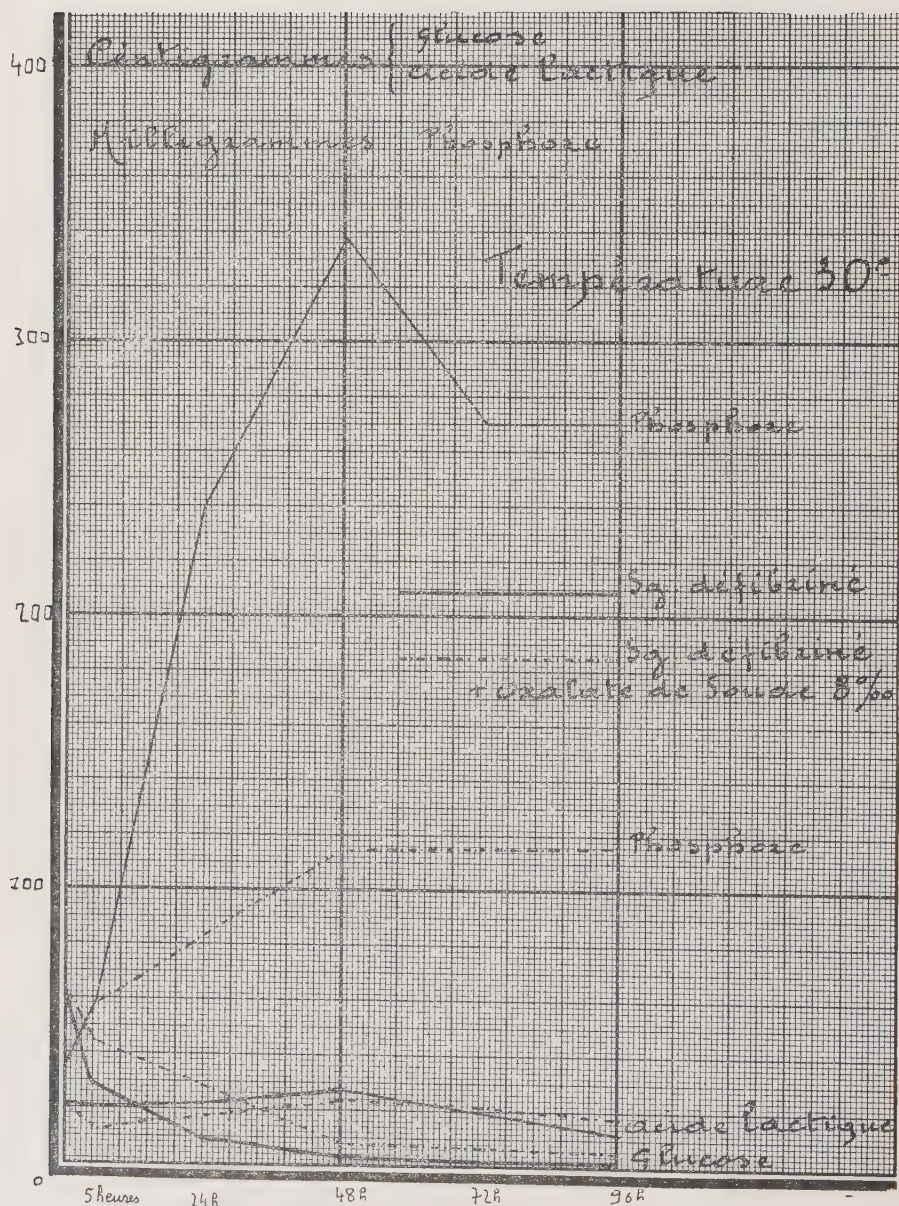
Note : Nous croyons qu'il est intéressant de signaler ici l'influence du fluorure de Na à 2 0/00 sur le sang d'un diabétique, particulièrement pendant les premières heures qui suivent ce prélèvement.

	P. minéral	Glucose
0 heure	30 mmg. 58	3 g. 36
1/2 heure	30 mmg. 19	»
1 heure	29 mmg. 21	»
1 h. 1/2	33 mmg. 13	»
6 heures	33 mmg. 68	»
22 heures	53 mmg. 80	3 g. 38

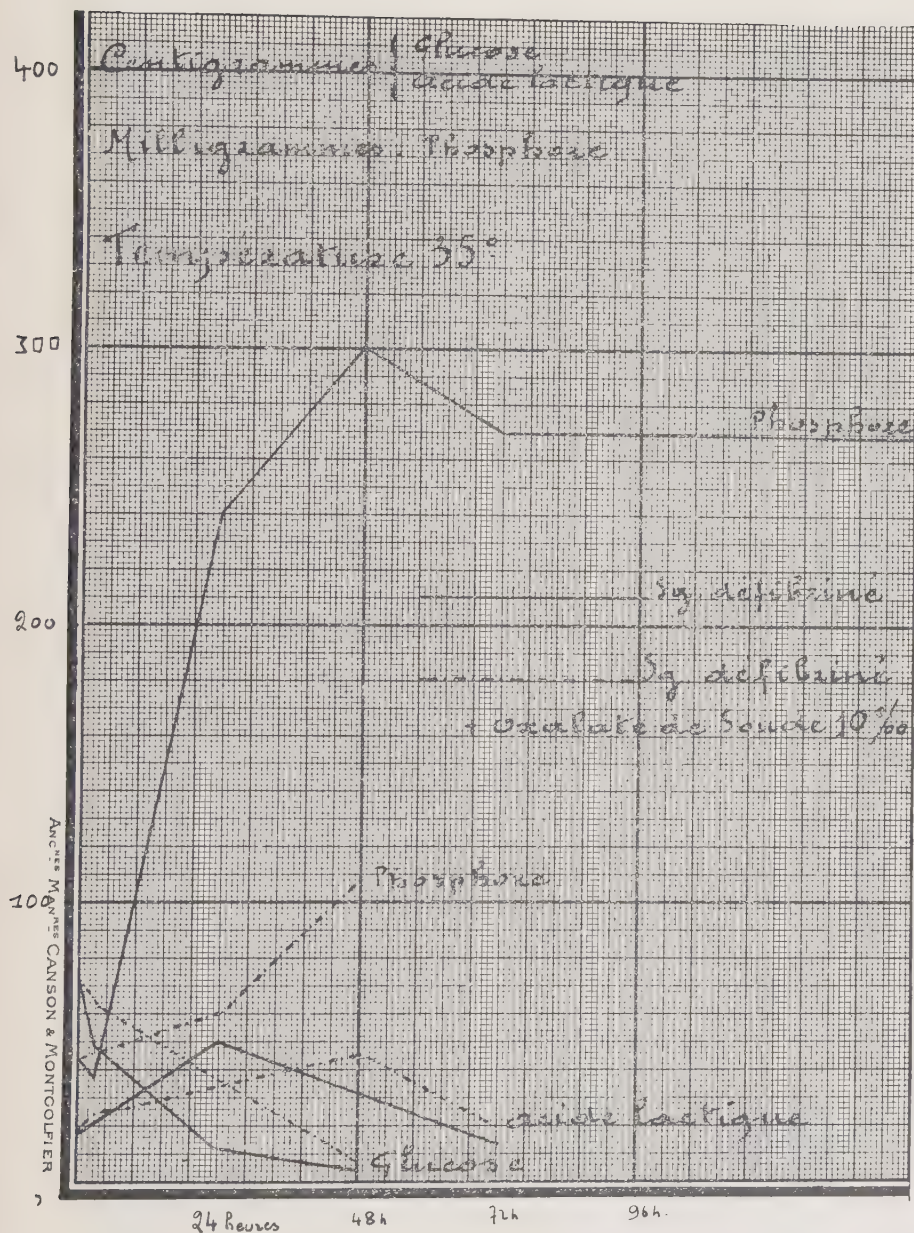
Dans le sang fluoré, l'inflexion initiale est donc très légère, alors que nous ne la trouvons pas dans le sang oxalaté.

De plus, la phosphominéralisation se fait très lentement, l'augmentation de phosphore minéral en 22 heures étant peu notable.





Courbe 11



Courbe 12

V. — Etude de la phosphominéralisation

Abandonnant l'étude de la lactacidémie, nous nous sommes efforcés, dans les essais qui suivent, d'observer la perte du glucose et la minéralisation du phosphore pendant une période plus longue que la précédente et avec une concentration d'oxalate plus faible, 2 à 4 o/oo au lieu de 8 à 10 o/oo.

Au début de chacune de ces expériences, un dosage de phosphore total était effectué afin de rechercher dans quelle proportion le phosphore organique se minéralisait à une température et en un temps déterminés.

Les trois essais qui suivent ont été réalisés à la température de 37°, l'un avec oxalate à 4 o/oo, l'autre avec oxalate à 2 o/oo, et le dernier uniquement sur sang défibriné.

TABLEAU I.

Sang oxalaté à 4 o/oo

Température 37°

	Glucose	Phosphore minéral	Phosphore total
0 heure	0,98	26,5	262
24 heures	0,564	110	
48 —	0,25	157	
72 —	0,24	188	
120 —	0,14	207	

La glycémie est exprimée en grammes.

La phosphatémie est exprimée en milligrammes. } pour 1.000 cm³ de sang

TABLEAU II.

Température 37°

	Sang défibriné		P. total	Sang défibriné + oxalate 2 0/00	
	Glucose	P. minér.		Glucose	P. minér.
0 heure	0,70	30 mgr. 50	0,306	0,70	30,30
1/2 h.	0,58	30,80		0,66	29,43
1 h. 1/2	0,40	33,70		0,59	37,78
2 h. 1/2	0,17	33,75		0,47	38,15
4 heures	0,13	38,58		0,35	38,78
23 —	0,10	292		0,13	220
48 —	—	307,3		0,10	261,5
72 —	—	304		—	260
96 —	—				268
7 jours	—				305
8 jours	—				308

La glycémie est exprimée en grammes.

La phosphatémie est exprimée en milligrammes. } pour 1.000 cm³ de sang

TABLEAU III.

Température 37°

	Sang défibriné		Phosphore total
	Glucose	Phosphore minéral	
0 heure	0,82	28	
2 heures	0,61	23,80	320 mmgr.
4 —	0,44	22	
24 —	0,12	248	
48 —	0,10	304	
72 —	0,04	317	
96 —	0,03	252,8	
120 —		250,4	
7 jours		267	
8 jours		299	
10 jours		324	
15 jours		326	

Les chiffres exprimés sont en grammes pour le glucose
et en milligrammes pour le P par 1.000 cm³ de sang.

Ainsi que nous le montre le tableau II ci-dessus, l'étude de la phosphatémie a été poursuivie pendant huit jours, et surveillée d'heure en heure au début des expériences, en comparant chaque résultat du sang additionné d'anticoagulant à celui donné par le même sang défibriné qui servait ainsi de témoin.

Nous arrivons aux conclusions suivantes.

1° *La phosphominéralisation est plus rapide, au début, dans le sang oxalaté à 2 0/00 que dans le même sang défibriné, puis elle ralentit et, au bout de quatre heures, le taux de phosphore est le même dans les deux sangs. Cependant, dans tous les cas, l'augmentation du phosphore ne se produit que lorsque la glycolyse est presque complète. Donc, en premier lieu, combinaison hexose-phosphate, puis destruction de ce composé et libération du phosphore.*

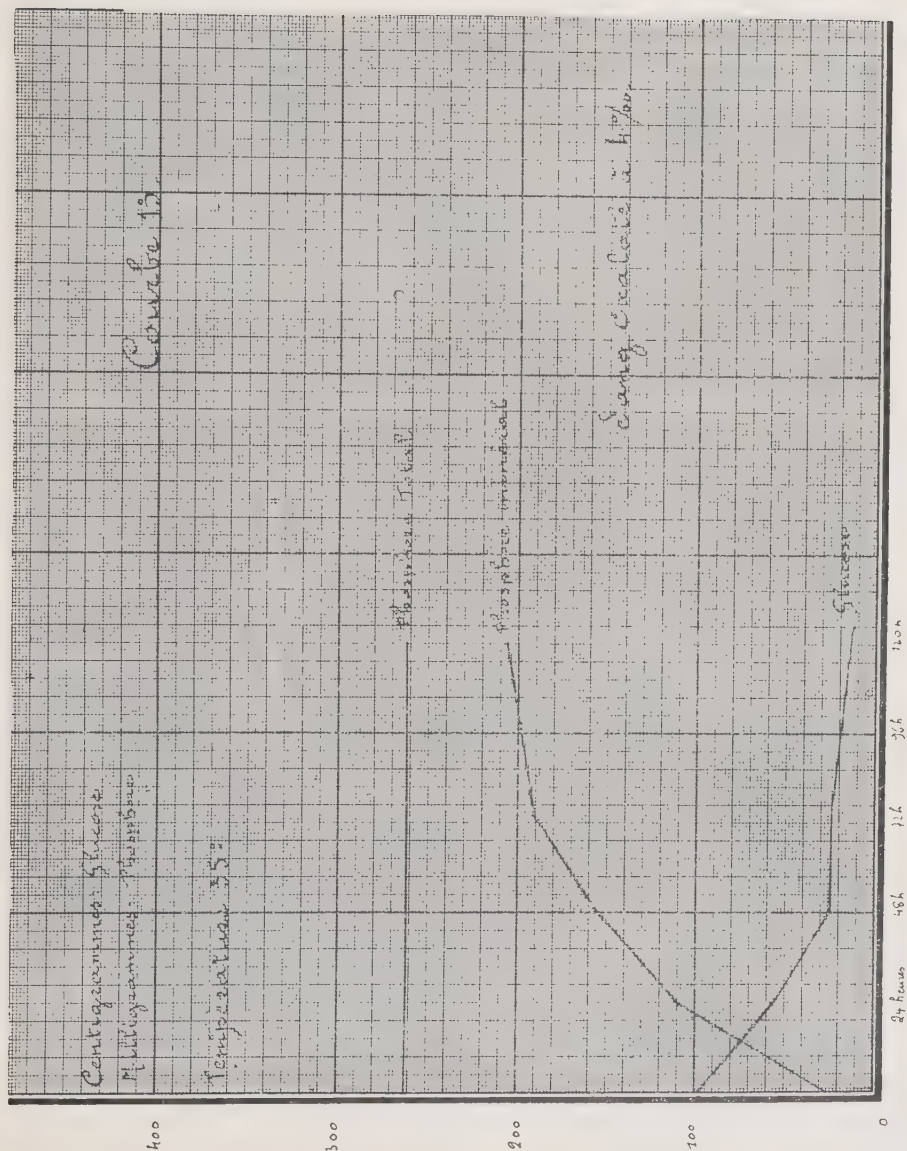
2° *L'augmentation du phosphore minéral devient brutale dans le sang défibriné en 48 heures, nous atteignons le taux de 307 mmgr. de phosphore par litre, alors que ce même taux ne sera obtenu qu'au bout de 8 jours dans le sang oxalaté à 2 0/00 ; par conséquent, il n'y a dans l'addition de 2 grammes d'oxalate 0/00 qu'une action ralentissante, et non pas une action empêchante.*

3° Le taux de phosphore minéral trouvé (dans le tableau II, 304, 308 mmgr., et 326 dans le tableau III) correspond assez bien avec la quantité de phosphore total, 306 et 320, trouvée dans les tableaux respectifs.

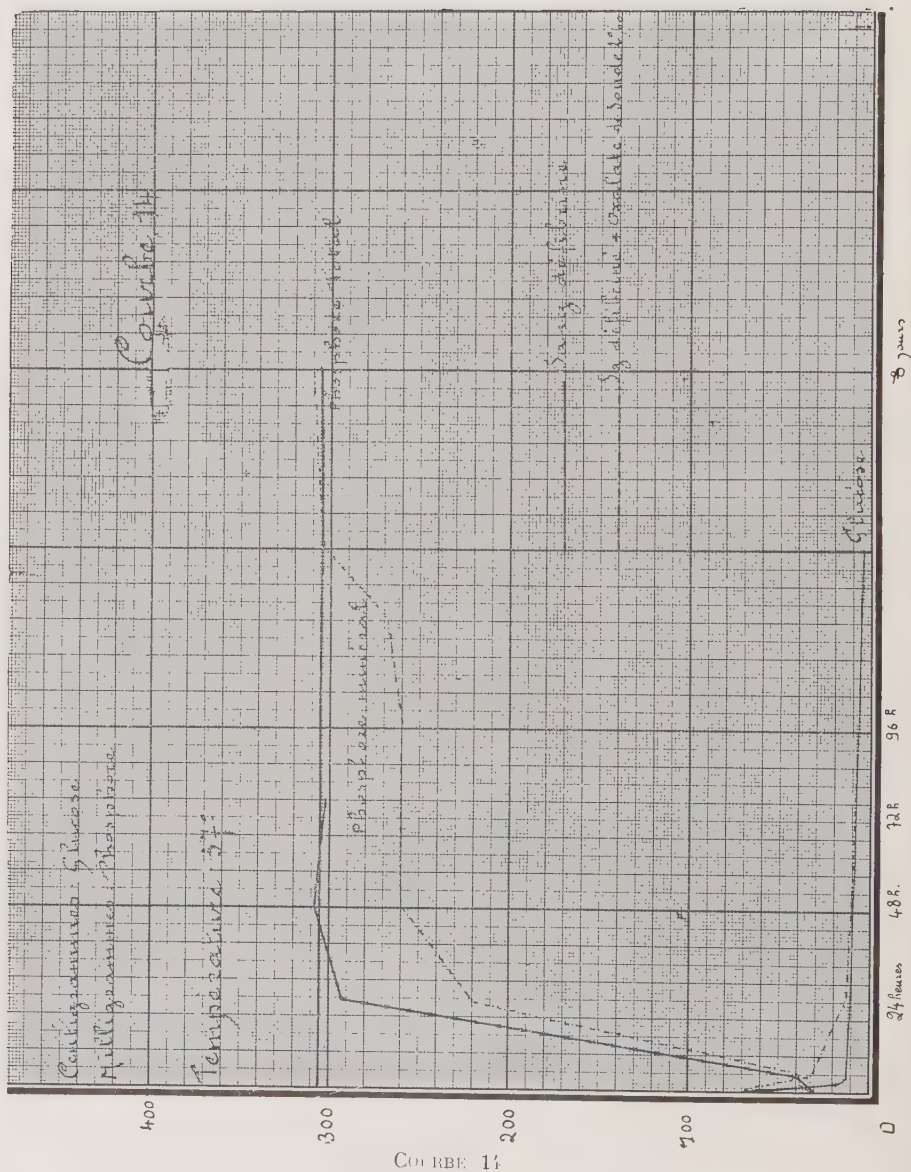
Donc, après un temps suffisamment long, *la phosphominéralisation « in vitro » serait complète.*

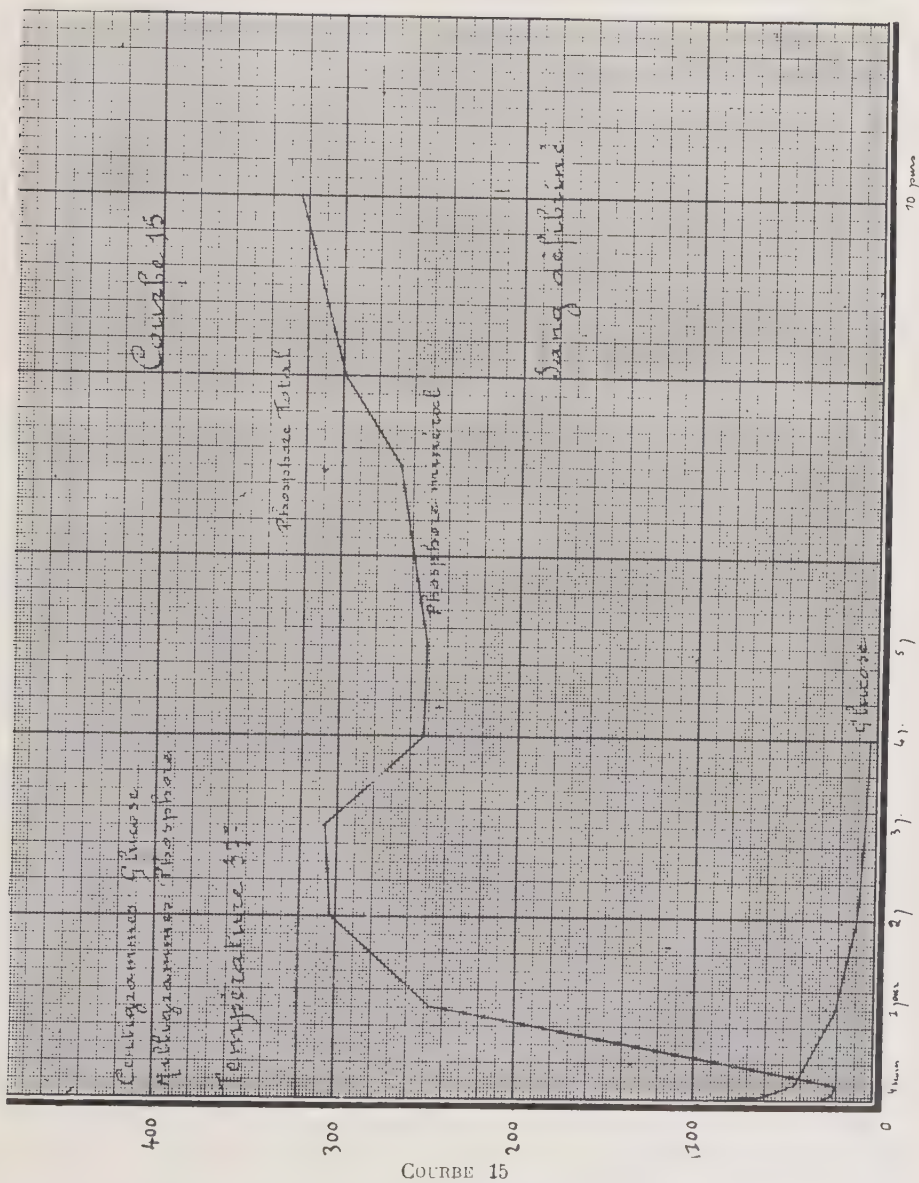
4° Enfin, *il doit y avoir une combinaison du phosphore autre que la combinaison hexose-phosphate constatée au début de la glycolyse, car dans la plupart de nos essais, nous avons remarqué que le taux du phosphore inorganique, après avoir atteint celui du phosphore total, subissait une baisse sensible pour subir ensuite une nouvelle minéralisation.*

Nous posons le problème, sans nous attacher à sa solution.



COURBE 13





CONCLUSIONS

1° Nous avons utilisé la méthode de désalbumination au ferrocyanure de potassium-acétate de zinc, suivant la technique de M. Paget et Mlle Dupont, pour le dosage de la glycémie, et nous avons adapté la même méthode au dosage de la lactacidémie.

L'étude comparée des divers anticoagulants, utilisés à des concentrations et températures différentes sur des sangs normaux ou pathologiques, nous amène à conclure que dans le sang « in vitro » :

2° Quel que soit l'anticoagulant employé, la glycolyse est fonction directe de la température : d'où nécessité, pour des essais comparés, de tenir un compte rigoureux de ce facteur important.

3° La glycolyse est fonction de la nature de l'anticoagulant :

- a) le citrate de soude, aux doses de 4, 6, 8, 10 0/00 ; le sulfate de zinc aux doses de 0,5, 1 et 4 0/00, médiocres coagulants, n'ont pas de pouvoir antiglycolytique appréciable.
- b) le polyanéthol sulfonate de sodium, très bon anticoagulant à des doses infimes : 0,1, 0,5, 1 0/00, n'inhibe en rien la glycolyse.
- c) l'oxalate de sodium, aux doses de 2, 4, 6, 8, 10 0/00, bon anticoagulant, ralentit considérablement la glycolyse.
- d) le fluorure de sodium, à la dose de 2 0/00, maintient le taux de glucose dans le sang pendant 5, 6, et même 7 jours, suivant les cas, à la température de 20°.

4° La glycolyse varie en fonction *inverse* de la concentration de l'anticoagulant, fait constaté plus particulièrement lors de l'étude des sangs oxalatés aux doses de 2, 4, 6, 8, 10 o/oo.

5° La glycolyse varie suivant la nature du sang, rapide chez les hypoglycémiques, elle est nettement ralentie chez le diabétique.

6° Le fluorure de sodium à 2 o/oo, le sulfate de zinc à 1 o/oo, l'oxalate de sodium à 6 o/oo, le citrate de sodium à 4 o/oo ne modifient pas la répartition du glucose entre les hématies et le plasma. Seul le polyanéthol sulfonate de sodium donne un rapport $\frac{G}{P}$ légèrement inférieur. Ce rapport baisse d'ailleurs très fortement, 24 heures après le prélèvement. Donc, la glycolyse rapide dans les globules ne s'effectue que très lentement dans le plasma.

7° Les variations concomitantes de la glycémie, de la lactacidémie et de la phosphatémie sont en fonction directe de la température.

8° Le taux de l'acide lactique au cours de la glycolyse est plus élevé dans le sang de l'hypoglycémique que dans celui du diabétique.

9° Le fluorure de sodium bloque l'acide lactique comme la glucose, mais ne joue qu'un rôle de ralentissement dans le phénomène de phosphominéralisation.

10° L'inflexion initiale du phosphore inorganique due à la combinaison hexose-phosphorique dans le sang défibriné ou fluoré ne se retrouve pas dans le sang oxalaté.

11° La phosphominéralisation est plus rapide au début dans le sang oxalaté à 2 o/oo que dans le même sang défibriné, puis elle ralentit considérablement et ne devient complète que 6 ou 8 jours après la ponction sanguine, à la température de 38°.

12° L'augmentation du phosphore minéral devient brutale dans le sang défibriné en 48 heures, et le taux du P minéral égale bientôt celui du P total ; donc, la phosphominéralisation « *in vitro* » semble être complète.

BIBLIOGRAPHIE

- BOAS. — *Deutsch Méd. Woch.* T. 19, p. 940, 1883.
- FURTH. — *Bioch. Zeitschr.* T. 26, p. 199, 1910.
- JÉRUSALEM. — *Zeitsch. f. physiol. chem.* T. 22, p. 361-379, 1908.
- MONDSCHIEIN. — *Bioch. Zeitschr.* T. 42, p. 91-105, 1912.
- KLAUS HANSEN. — *Bioch. Zeitschr.* T. 167, p. 58, 1926.
- JERVELL. — *Acta Medica Scandinavica*, suppl., 1928.
- PAGET, DUPONT. — *Journal des Sciences Médicales de Lille*, n° 33, p. 144-151, août 1934.
- PAGET, DUPONT. — *Journal des Sciences Médicales de Lille*, n° 14, p. 342-348, avril 1935.
- PAGET, DUPONT. — C. R. *Société de Biologie*, 1934, T. 117., p. 22-881.
- J. CAYLA. — Recherche sur les Orthophosphates minéraux des humeurs. Thèse 1935, Denigès.
- J. CAYLA, DULCY. — *Montpellier Médical*, juillet 1934, p. 96-115.
- J. CAYLA, DULCY. — *Arch. Soc. Sciences Méd. Biologiques*, Montpellier 1933, 14, p. 489-532.
- J. DULCY. — L'acide lactique dans le sang et les humeurs. Thèse, 1934.
- BLITSTEIN. — *Revue Belge des Sciences Médicales*, février 1935, p. 69-157.
- LUMIÈRE et COUTURIER. — C.R. S.B. Vol. 94, p. 1.166, 1926.
- MELON. — C.R. S.B., Vol. 95, p. 726, 1926.
- Edg. ZUNZ. — A propos des propriétés anticoagulantes du polyanéthol sulfonate sodique ou « liquoïde », C.R. S.B., 116, p. 336, 1934.
- J. ROCHE, A. ROCHE. — B.S. C.B., mai 1929, p. 549. Recherches sur la participation d'une combinaison phosphorée à la glycolyse « *in vitro* ».
- BIERRY, RATHERY. — *Journal Médical Français*, p. 194-195, juin 1935.
- Edg. ZUNZ. — *Le Sang*, janvier 1935, n° 1, p. 1 à 57.
Le Sang, février 1935, n° 2, p. 124.146.

- A. ROCHE, J. ROCHE. — *C. R. Soc. Bio.*, 1927, 97-802.
A. ROCHE, J. ROCHE. — *C. R. Soc. Bio.*, 1927, 97-804.
STEWART, PERCIVAL. — *Bioch. Journal*, 1928, 22-559-570.
EISENMAN. — *Journal Biol. Chem.* Vol. 71, p. 587, 1926.
LÉPINE. — *Le Diabète sucré*, Alcan, 1909.
A. BERNARD. — *Leçons sur le diabète*, 1877.
ARTHUS. — *Archives de Physiologie*, 1891-1892.
M. PAGET, DE CONINCK, DUPONT. — *Journal des Sciences Médicales de Lille*, déc. 1935, p. 613-639.
J. ROCHE, A. ROCHE. — *Bull. Soc. Ch. Bio.*, 1929, 11-549.
RONA IWASAKI. — *Bioch. Zeitschr.*, 1927, 184-318.
JOST. — *Zeitschr. Physiol. Chem.*, 1927, 165-171.
ENGELHARDT, BRAUNSTEIN. — *Bioch. Zeitschr.*, 1928, 201-48.
JAVILLIER, FABRYKANT. — *Bull. Soc. Ch. Bio.*, 1931, 13-1.252.
M. LABBÉ, FABRYKANT. — *Le Phosphore*, Masson, Paris, 1933.
BARRENSCHEEN, VA' SA' RHELYI. — *Bioch. Zeitschr.*, 1931, 230-330.
BARRENSCHEEN, BRAUN. — *Bioch. Zeitschr.*, 1931, 231-144.
-

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION	5
CHAPITRE PREMIER. — <i>Méthodes de dosage</i>	7
CHAPITRE II. — <i>Influence des anticoagulants sur la vitesse de la glycolyse</i> <i>« in vitro »</i>	13
CHAPITRE III. — <i>Influence des anticoagulants sur le rapport Glucides Glo-</i> <i>bules, Glucides plasma</i>	41
CHAPITRE IV. — <i>Etude comparée de la glycémie, de la lactacidémie, de la</i> <i>phosphatémie, au cours de la glycolyse « in vitro »</i>	47
CONCLUSIONS	75
BIBLIOGRAPHIE	77

Vu :

Nancy, le 27 Avril 1936

Le Président de thèse,

DOURIS.

Vu et approuvé :

Nancy, le 28 Avril 1936.

Le Doyen de la Faculté de Pharmacie,

PASTUREAU.

Vu et permis d'imprimer :

Nancy, le 30 Avril 1936.

Le Recteur de l'Académie,

BRUNTZ.

Président du Conseil de l'Université.

